

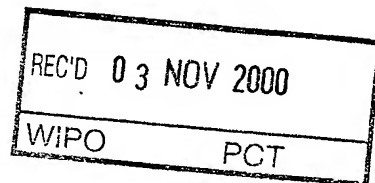
12/87

PCTEP

00/08813

# BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

GP 00/8813  
4



## Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

**Aktenzeichen:**

199 45 916.9

**Anmeldetag:**

24. September 1999

**Anmelder/Inhaber:**

BioteCon Diagnostics GmbH, Berlin/De

(vormals: BIOTECON DIAGNOSTICS GMBH,  
Potsdam/DE)

**Bezeichnung:**

Nukleinsäuremoleküle zum Nachweis von  
Bakterien und phylogenetischen Einheiten von  
Bakterien

**IPC:**

C 07 H 21/00

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 21. September 2000  
Deutsches Patent- und Mark namt

Der Präsident

Im Auftrag

**PRIORITY  
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

A 9161  
03/00  
EDV-L

Dzierzo

## Nukleinsäuremoleküle zum Nachweis von Bakterien und phylogenetischen Einheiten von Bakterien

Die vorliegende Erfindung betrifft Nukleinsäuremoleküle, die die Identifikation von Bakterien oder Bakteriengruppen ermöglichen.

Bakterien sind ein allgegenwärtiger Bestandteil der menschlichen Umwelt. Sie verursachen jedoch als Lebensmittelverderber oder Krankheitserreger so häufig Probleme, daß einer effektiven, schnellen und zuverlässigen Diagnostik sehr große Bedeutung zukommt.

Zu den wichtigsten Mikroorganismen, die Lebensmittel verderben gehören *Clostridium Botulinum*, der Erreger des Botulismus, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*, *Cryptosporidium parvum*, enteropathologische *Escherichia coli* Stämme, *Shigella*, *Listeria monocytogenes*, Salmonellen Spezies, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio vulnificus* und *Yersinia enterocolitica*. In den USA hat das General Accounting Office (GAO) 1996 berichtet, daß 6,5-81 Millionen Fälle von Lebensmittelvergiftung jährlich vorkommen. Die amerikanische Food and Drug Administration (FDA) schätzt, daß 2-3 % aller Lebensmittelvergiftungen zu sekundären chronischen Erkrankungen führt. Es wird außerdem geschätzt, daß jedes Jahr 2-4 Millionen Erkrankungen in den USA durch mehr als 2000 *Salmonella* Stämme verursacht werden. Diese Schreckensstatistik ließe sich für andere Lebensmittelverderber beliebig verlängern. Lebensmittelvergiftungen verursachen jedoch nicht nur menschliches

---

Leid, im Extremfall den Tod, sondern auch einen beträchtlichen ökonomischen Schaden. Dieser wird in den USA für 1991 z.B. auf 5,6-9,4 Milliarden \$ geschätzt. Es ist allgemein bekannt, daß von Mikroorganismen als Infektionserreger große Gefahren ausgehen, die in ihrem Potential kaum abzuschätzen sind. Statistische Größenordnungen werden z.B. vom Weltgesundheitsbericht der WHO reflektiert. So waren 1998 Infektionserreger, inklusive Parasiten, für 9,8 Millionen Todesfälle verantwortlich (ohne prä- oder postnatale Infektionen), was einem Anteil von 18,2 %

an allen krankheitsbedingten Todesfällen entspricht. Die gefährlichen Erreger lassen sich nicht so gut zusammenfassen wie die Lebensmittelverderber, da sie sich aus vielen phylogenetischen Zweigen der Eubakterien rekrutieren. Ein besonders großes "infektiöses Potential" besteht vor allem innerhalb der Familie der Enterobakterien.

Im Kampf gegen humanpathogene Bakterien besteht ein wesentlicher Schritt in der Identifizierung des für eine Krankheit oder ein pathologisches Symptom ursächlichen Keims. Häufig können erst nach der Identifizierung geeignete medizinische Maßnahmen ergriffen werden. Darüber hinaus können gut funktionierende Nachweismethoden für Bakterien als präventive Werkzeuge der Qualitätssicherung von Lebensmitteln eingesetzt werden.

Der klassische Nachweis von Bakterien besteht in der mikrobiologischen Identifizierung, die in der Regel eine Vereinzelung auf Agar-Agar-haltigen selektiven Medien umfaßt. Dieses Verfahren hat jedoch zwei wesentliche Nachteile: erstens ist der Nachweis häufig nicht zuverlässig oder spezifisch. Zweitens benötigen viele Bakterien eine Wachstumszeit von mindestens 18 Stunden zur Vereinzelung als Kolonie. In vielen Fällen ist zudem eine Sekundärvereinzelung oder ein Sekundärnachweis erforderlich. Alles in allem sind dann Diagnosezeiten von bis zu einer Woche keine Seltenheit. Darüber hinaus gibt es auch pathogene Keime, die sich nicht kultivieren lassen (J.J. Byrd et al. 1991, Appl. Environ. Microbiol. 57, 875-878). In Zeiten schneller Transportwege und globalen Warenverkehrs sind jedoch schnelle diagnostische Verfahren, die im optimalen Fall nicht länger als 24 h dauern, essentiell, um eine Verbreitung Krankheitserregern oder global gestreute Lebensmittelvergiftungen aus nur einer lokalen Quelle zu verhindern.

Um modernen Anforderungen gerecht zu werden wurden in den letzten Jahren eine Reihe von Verfahren entwickelt, die eine schnelle und zuverlässige routinemäßige Identifizierung von Keimen leisten sollen. So nutzen z.B. immunologische Methoden die spezifische Bindung monoklonaler oder polyklonaler Antikörper an bakte-

rielle Oberflächenantigene. Solche Verfahren werden insbesondere zur Serotypisierung, z.B. von Salmonellen verwendet. Im allgemeinen ist der Nachweis mit einem ELISA zwar relativ schnell, verlangt jedoch die Prozessierung und Isolierung des jeweiligen Antigens, was mit vielen Problemen behaftet sein kann. Als besonders leistungsfähig erwiesen sich bakterielle Nachweismethoden, die sich DNA-Sonden bedienen, denn sie sind sehr sensitiv, relativ spezifisch und lassen sich in einem experimentellen zeitlichen Gesamtrahmen von 2-3 Tagen zum Nachweis von Mikroorganismen nutzen.

### Hintergrund der Erfindung

Die Erfindung besteht in der Bereitstellung spezifischer DNA-Sequenzen und in der Auswahl von DNA-Regionen, die zum Nachweis von Bakterien besonders geeignet sind. Dieser Anwendung liegt also die Identifikation von Organismen anhand ihrer Erbinformationen zugrunde. Abweichungen in der Nukleotidsequenz bestimmter DNA-Bereiche in mindestens einem einzigen Baustein können bereits zur Differenzierung von Spezies genutzt werden.

Historisch betrachtet wurden ribosomale RNA Gene bereits für die phylogenetische Einordnung von Organismen genutzt. Sequenzvergleiche von 5S und 16S ribosomalen Genen verschiedener Bakterien führten zu beträchtlichen Korrekturen bei verwandtschaftlichen Zuordnungen und zur Entdeckung des Reiches der Archaeobacteria. Aufgrund ihrer Größe und dem dementsprechend hohen Sequenzieraufwand wird die 23S RNA erst in den letzten Jahren zum Zwecke systematischer Einteilungen genutzt.

In praktischen Anwendungen war die direkte Sequenzierung von Genen zu identifizierender Mikroorganismen zu aufwendig und zeitraubend. In den 80er Jahren wurden deshalb insbesondere Nukleotidsonden zum Nachweis von Bakterien verwendet. Diese können zwar eine sehr gute Spezifität aufweisen, die Nachweisgrenze ist



jedoch häufig zu niedrig. Eine entscheidende Verbesserung erfuhr die Sondentechnologie in der Kombination mit Amplifikationstechniken, die also die nachzuweisende Nukleotidsequenz vermehren und dadurch die Sensitivität des Nachweises beträchtlich erhöhen. So ist es möglich im Extremfall ein einziges isoliertes Genom nachzuweisen. In der Praxis treten bei der Isolierung von DNA Verluste auf, die die Nachweisgrenze der Zellzahl auf ca.  $10^2$  bis  $10^4$  erhöhen.

Basierend auf Arbeiten der Grundlagenforschung wurden DNA-Sonden aus den 5S-, 16S- und 23S-Genen zur praktischen Anwendung genutzt. Erwähnt werden können z.B. die Patente Nietupski et al. (US 5,147,778) zur Detektion von *Salmonella*, Mann und Wood (US 6,554,144) zur Detektion von *Yersinia* Spezies, Leong (EP 0479117 A1) zur Detektion verschiedener gramnegativer und grampositiver Bakterien, Carico et al. (EP 133671 B1) zur Detektion verschiedener enterobakterieller Spezies, Shah et al. (EP 0339783 B1) zur Detektion von *Yersinia enterocolitica*, Carrico (EP 0163220 B1) zur Detektion von *Escherichia coli*, Hogan et al. (WO 88/03957) zur Detektion von Spezies der Enterobakterien, *Mycobacterium*, *Mycoplasma* und *Legionella*, Leiser et al. (WO 97/41253) zur Detektion verschiedener Mikroorganismen, Grosz und Jensen (WO 95/33854) zur Detektion von *Salmonella enterica*, Stackebrandt und Curiaie (EP 0314294 A2) zur Detektion von *Listeria monocytogenes*, Wolff et al. (EP 0408077 A2), Hogan und Hammond (US 5,681,698) zum Nachweis von *Mycobacterium kansasii*, Hogan et al. (US 5,679,520) zum Nachweis verschiedener Bakterien, Kohne (US 5,567,587) insbesondere zur Detektion von bakterieller rRNA, Kohne (US 5,714,324) zur Detektion verschiedener Bakterien, Pelletier (WO 94/28174) zum Nachweis von *Legionella* und Kohne (US 5,601,984) zum Nachweis verschiedener Bakterien. Das Gros der Patentschriften bezieht sich dabei auf die Sequenz des 16 S rDNA-Gens, viele auch auf die 23 S rDNA.

Es zeigte sich jedoch, daß letztere Gene für viele Differenzierungsleistungen in der praktischen Anwendung nicht geeignet sind, da sie zu stark konserviert sind. Insbe-

sondere nahe verwandte Mikroorganismen lassen sich nicht unterscheiden. Auf der anderen Seite wurde das 5 S rDNA-Gen in der Grundlagenforschung auf Grund der geringen Größe ursprünglich zwar für phylogenetische Studien genutzt, in der praktischen Anwendung ist es jedoch in der Regel zu variabel und das Differenzierungspotential zu gering.

Da 5 S, 16 S und 23 S rDNA-Gene als diagnostische Hilfsmittel mit vielen Nachteilen behaftet sind, wurde nach DNA-Regionen gesucht, die zur Identifizierung aller Eubakterien herangezogen werden können. Eine solche DNA-Region sollte sehr variable und zugleich stark konservierte Sequenzen aufweisen. Die variablen Bereiche wären dann zur Differenzierung nahe verwandter Spezies, wie Stämme und Arten, geeignet. Die konservierten Sequenzabfolgen wären zum Nachweis entfernt verwandter Bakterien oder von höheren taxonomischen Einheiten zu nutzen.

Im Kontext ausgedehnter Studien über ribosomale Operons wurde auch der 16 S-23 S-transkribierte Spacer in jüngster Vergangenheit in der Literatur diskutiert; die Anwendbarkeit in der systematischen Bakteriologie jedoch in Frage gestellt. So sehen Nagpal et al. (J. Microbiol. Meth. 33, 1998, S. 212) die Nutzbarkeit dieses Spacer äußerst kritisch: Ein besonderes Problem dieses transkribierten rDNA-Spacers liegt vor allem auch darin, daß er häufig tRNA-Insertionen enthält. Solche Insertionen stellen dramatische Sequenzabweichungen dar, und haben nicht notwendigerweise eine Relation zu phylogenetischen Abständen. Sie wurden jedoch in der Vergangenheit genutzt, um den durch sie verursachten Längenpolymorphismus als phylogenetisches Charakteristikum heranzuziehen (Jensen et al. 1993, Appl. Envir. Microb. 59, 945-952, Jensen, WO 93/11264, Kur et al. 1995, Acta Microb. Pol. 44, 111-117).

Eine alternative Zielsequenz zur Identifizierung von Bakterien besteht in dem transkribierten Spacer zwischen 23 S und 5 S rDNA. So publizierten Zhu et al. (J. Appl. Bacteriol. 80, 1996, 244-251) den Nachweis von *Salmonella typhi* mit Hilfe dieser

diagnostischen DNA-Region. Die generelle Nutzbarkeit dieses Spacers zum Nachweis auch anderer Bakterien läßt sich aus dieser Arbeit aber nicht ableiten. Es gibt sehr viele Beispiele, die zeigen, daß eine DNA-Region nur zur Identifikation einer oder weniger bakterieller Spezies geeignet ist. Einzelne Patente implizieren eine mögliche, doch sehr begrenzte Anwendbarkeit des 23 S-5 S transkribierten DNA-Bereichs für die bakterielle Diagnostik. Sie alle haben gemeinsam, daß ihre Anwendbarkeit sich nur auf eine bakterielle Spezies bezieht, und zwar auf den Nachweis von Legionellen (Heidrich et al., EP.0739988 A1), von *Pseudomonas aeruginosa* (Berghof et al., DE 19739611 A1) und auf den Nachweis von *Staphylococcus aureus* (Berghof et al., WO 99/05159).

Der vorliegenden Erfindung lag das technische Problem zugrunde, Materialien und Verfahren anzugeben, die es ermöglichen, ein beliebiges Bakterium (vorzugsweise aus der Gruppe der Enterobakterien) in einem Untersuchungsmaterial nachzuweisen.

Dieses Problem wird erfindungsgemäß gelöst durch ein Nukleinsäuremolekül als Sonde und/oder Primer zum Nachweis von Bakterien, ausgewählt aus

a) einer Nukleinsäure, umfassend, mindestens eine Sequenz mit einer der SEQ ID-Nrn. 1 bis 530 und/oder eine Sequenz aus Position 2667 bis 2720, 2727 bis 2776, 2777 bis 2801, 2801 bis 2832, 2857 bis 2896, 2907 bis 2931, 2983 bis 2999 und/oder 3000 bis 3032 gemäß SEQ ID Nr. 1; bzw. hierzu homologen Nukleinsäuren,

---

b) einer Nukleinsäure, die spezifisch mit einer Nukleinsäure nach a) hybridisiert;

c) einer Nukleinsäure, die 70 %, vorzugsweise mindestens 90 % Identität zu einer Nukleinsäure nach a) oder b) aufweist,

d) einer Nukleinsäure, die komplementär zu einer Nukleinsäure nach a) bis c) ist und/oder

Kombinationen der genannten Nukleinsäuren nach a) bis d), ausgenommen die SEQ ID No 1.

Die weiteren Ansprüche betreffen bevorzugte Ausführungsformen.

Bei einer besonders bevorzugten Ausführungsform wird das Vorliegen von Enterobakterien in einer Analysenprobe nachgewiesen, indem die Analysenprobe mit einer Sonde in Kontakt gebracht wird, die das Vorliegen einer Nukleinsäure aus dem 23S/5S rDNA Genomabschnitt der Enterobakterien nachweist.

Die in Anspruch 1 angegebene Sequenz mit der Nr. 1 stammt aus *E. Coli*. Homologe DNA Sequenzen sind solche, die anderen Bakterien als die gezeigte *E. Coli* Sequenz entstammen, wobei jedoch der Genomabschnitt der anderen Bakterien dem der SEQ ID Nr. 1 zugrundeliegenden Sequenz entspricht. Für nähere Einzelheiten wird auf die noch folgende Definition der homologen DNA Sequenzen verwiesen.

Das erfindungsgemäße Nukleinsäuremolekül umfaßt vorzugsweise mindestens 10 Nukleotide, besonders bevorzugt mindestens 14 Nukleotide. Nukleinsäuremoleküle dieser Länge werden vorzugsweise als Primer eingesetzt, während als Sonde verwendete Nukleinsäuren vorzugsweise mindestens 50 Nukleotide umfassen.

---

Bei einer weiteren bevorzugten Ausführungsform können auch Nukleotide der Sonde bzw. des Primers ersetzt sein durch modifizierte Nukleotide, enthaltend z. B. angefügte Gruppen, die letztlich einer Nachweisreaktion dienen. Besonders bevorzugte Derivatisierungen sind in Anspruch 4 angegeben.

Bei einer weiteren bevorzugten Ausführungsform werden Kombinationen der genannten Nukleinsäuremoleküle eingesetzt. Die Zusammenstellung der Kombination aus Nukleinsäuremolekülen gestattet es, die Selektivität der Nachweisreaktion festzulegen. Dabei können durch Auswahl der Primerkombinationen und/oder Sondenkombinationen die Bedingungen der Nachweisreaktion so festgelegt werden, daß diese entweder generell das Vorhandensein von Bakterien in einer Probe nachweisen oder aber spezifisch das Vorhandensein einer bestimmten Bakterienspezies anzeigt.

Ein erfindungsgemäßer Kit enthält mindestens eine erfindungsgemäße Nukleinsäure zusammen mit den weiteren üblichen Reagenzien, die bei Nukleinsäurenachweisen eingesetzt werden. Hierzu zählen u. a. geeignete Puffersubstanzen und Nachweismittel wie Enzyme, mit denen beispielsweise gebildete biotinylierte Nukleinsäurehybride nachgewiesen werden können.

Bei einer weiteren bevorzugten Ausführungsform, hierin auch als Konsensus PCR bezeichnet, wird das Verfahren gemäß Anspruch 8 durchgeführt. Dabei wird zunächst durch den Einsatz konservierter Primer (diese hybridisieren an Nukleinsäuren verschiedener bakterieller taxonomischer Einheiten) ein Nukleinsäurefragment amplifiziert und durch den Einsatz weiterer spezifischerer Nukleinsäuren (diese hybridisieren nur noch mit wenigen taxonomischen Einheiten oder nur einer bestimmten Spezies) werden dann spezifischere Nukleinsäureabschnitte nachgewiesen. Letztere erlauben dann den Rückschluß auf das Vorhandensein einer bestimmten Gattung, Art oder Spezies in der Analysenprobe.

---

In den eingesetzten Verfahren zum Nachweis von Nukleinsäure können die verschiedensten etablierten Nachweise verwendet werden. Hierzu zählen Southern Blot-Techniken, PCR-Techniken, LCR-Techniken usw.

In einer breit angelegten Studie wurde transkribierter Spacer zwischen 23S- und 5S-rDNA in seiner generellen Nutzbarkeit als diagnostisches Zielmolekül untersucht. Zu diesem Zweck wurde genomische DNA sehr vieler bakterieller Stämme isoliert, aufgereinigt, in einen Vektor kloniert, sequenziert und schließlich in einem umfangreichen Sequenzvergleich ausgewertet. Überraschenderweise war dieser Sequenzabschnitt durchaus zur Identifizierung fast aller bakteriellen Spezies geeignet. Ermutigt durch diesen Befund wurden die Analysen auf die benachbarten Bereiche des Spacers ausgedehnt. Alles in allem wurden DNA-Fragmente von allen bakteriellen Klassen oder kleineren phylogenetischen Einheiten untersucht. Sie haben eine Ausdehnung von 400-750 Basenpaaren und umfassen das Ende, d.h. speziesabhängig die letzten 330-430 Nukleotide des 23 S rDNA-Genes, den transkribierten Spacer und das komplette 5 S rDNA-Gen. Die Gesamtgröße der Fragmente beträgt 400-750 Basenpaare. Die Experimente zeigten, daß bei fast allen bakteriellen Spezies das 23S rDNA-Gen und das 5 S rDNA-Gen benachbart sind. Diese Erkenntnis ist eine wichtige Voraussetzung für die Nutzung und Anwendbarkeit der vorliegenden Erfindung.

Die vorliegende Erfindung beruht insbesondere darauf, daß eine DNA-Region zum Nachweis von Mikroorganismen ausgewählt wird, die wesentliche Anteile von mindestens zwei benachbarten Genen beinhalten kann. In der Praxis wird die Nützlichkeit des Bereiches insbesondere durch die phylogenetische Variabilität desselben bestimmt. Je nachdem ob entfernt verwandte Bakterien, bzw. taxonomische Einheiten oder ob Stämme einer Spezies bestimmt werden sollen, kann es diesbezüglich völlig konträre Anforderungen geben. Die Häufigkeit des Vorkommens sowohl variabler, als auch konservierter Regionen ist nun, wie am Beispiel des 23 S-5 S-Tandems gezeigt, bei zwei Genen größer als bei einem Gen. Der Nutzen von zwei benachbarten Genen, inklusive der variablen interkalierenden Sequenzen stellt also einen beträchtlichen Vorteil dar.

Es wurde ferner gefunden, daß das Ende des 23 S rDNA-Gens, der dazwischenliegende transkribierte Spacer und das 5S rDNA Gen, Nukleotidsequenzen enthalten, die ein vielfältiges Spektrum von sehr variabel bis sehr konserviert abdecken. Eine Feinanalyse dieser Region ergab sehr interessante weitere Aufschlüsse bezüglich des Differenzierungspotentials verschiedener phylogenetischer bakterieller Einheiten (Abb. 2, Tab. 6). Nahezu alle taxonomischen Einheiten sind unter Nutzung von Subbereichen nachzuweisen und/oder zu differenzieren. Dargestellt wurden in Abb. 2 mit den Sektionen 1-9 insbesondere mehr oder weniger variable Bereiche, während die stark konservierten diese interkalieren und diesen benachbart sind. Letztere eignen sich also besonders zum Nachweis hoher taxonomischer Einheiten, wie der gesamten Eubakterien oder von Klassen oder Abteilungen aus diesen.

Einen weiteren Hinweis über die Nutzbarkeit der Region gibt auch der phylogenetische Stammbaum aus Abbildung 1. Es ist zu erkennen, daß die 23 S rDNA-5 S rDNA-Region bezüglich der groben Klassifizierung eine sehr gute Differenzierung ermöglicht, da Mitglieder der Proteobakterien in 1-2 Gruppen angeordnet werden, während die Firmicutes abgetrennt sind. Des weiteren indiziert die Länge der Zweige auch bei nahe verwandten Spezies, daß sie sich gut voneinander unterscheiden lassen. Dabei ist eine phylogenetisch korrekte Zuordnung der eng Verwandten in dem Stammbaum durchaus unerwünscht, denn dann würden sie in einer eng zusammenliegenden kohärenten Gruppe liegen und ließen sich möglicherweise nicht mehr so leicht voneinander unterscheiden.

---

#### Ausführliche Beschreibung der Abbildungen

Abb. 1: Phylogenetischer Stammbaum einiger in dieser Arbeit nachgewiesener Bakterien. Es ist zu erkennen, daß die Proteobacteria und die Firmicutes abtrennbare Zweige bilden.

Abb. 2: Schematische Darstellung des hierin beschriebenen ribosomalen Bereiches bestehend aus dem terminalen Bereich der 23 S rDNA, dem transkribierten Spacer und der 5 S rDNA. Dieser Bereich oder Teile davon werden zum Nachweis von Bakterien verwendet. Eine detaillierte Charakterisierung einzelner Domänen ist Tabelle 6 zu entnehmen.

Abb. 3-7: Nachweis der Enterobakterien durch PCR. Gezeigt sind Ethidiumbromid-gefärbte Gele. Das Vorhandensein von Banden ist charakteristisch für die Anwesenheit von Enterobakterien. In der oberen Hälfte der Abbildungen befinden sich die positiven Nachweise, in der unteren die Negativkontrollen. Die Verwendung der Primer ist in Tabelle 7 zusammengefaßt. Als DNA-Größenstandard wurde eine Mischung von Bgl 1 und Hinf 1 restriktionsverdauter pBR328-Plasmid-DNA (Boehringer Mannheim) verwendet. Die DNA-Leiter umfaßt die Restriktionsfragmentgrößen 154, 220, 234, 298, 394, 453, 517, 653, 1033, 1230, 1766 und 2176 Basenpaare.

Abb. 8: Schema einer Konsensus-PCR

Konservierte Primer sind peripher angeordnet, weniger konservierte liegen verschachtelt intern. Die Konsensus-PCR erlaubt zunächst die Amplifikation von DNA mit hoher taxonomischer Breite, im Extremfall aller bakteriellen Spezies. In nachfolgenden Schritten können weitere Amplifikationsrunden stattfinden, eventuell in separaten Reaktionsgefäßen, mit Primern, die für kleinere taxonomische Einheiten spezifisch sind. Im abschließenden Schritt können Sonden verwendet werden, die ebenfalls zur Spezifität des Nachweises beitragen und außerdem die Detektion, z.B. über Farbstoffe unterstützen können. In dieser Abbildung und hierin gilt folgende Nomenklatur: Primer A = die konserviertesten und peripher gelegenen Primer innerhalb des Nachweissystems, Primer [A, B, C....] = Reihenfolge der Primer innerhalb der Verschachtelung wie oben gezeigt, Primer [Großbuchstabe]1 = vorwärts-Primer, Primer [Großbuchstabe]2 = rückwärts-Primer, Primer [Großbuchstabe] [Zahl] [Kleinbuchstabe] = die Kleinbuchstaben kennzeichnen ähnliche Primer oder



solche, die an homologen oder vergleichbaren Positionen innerhalb einer Ziel-DNA hybridisieren. Die Sonde liegt bevorzugt im zentralen, hochvariablen Bereich wenn Spezies oder Stämme nachgewiesen werden sollen.

### Beispiel 1): Nachweis der Familie der Enterobacteriaceae

Aus Reinkulturen der in Tabelle 1 aufgeführten Bakterien wurde in an sich bekannten Standardverfahren genomische DNA isoliert. Je ca. 1 bis 100 ng dieser Präparationen wurden dann in einer PCR eingesetzt. Der Reaktionsansatz hatte die nachfolgende Zusammensetzung:

genomische DNA	- 1 µl
H <sub>2</sub> O	- 19,8 µl
Puffer (10x) * <sup>1</sup>	- 2,5 µl
dNTP (10 mM)* <sup>2</sup>	- 0,25 µl
vorwärts-Primer (10 µM)* <sup>3</sup>	- 0,20 µl
rückwärts-Primer (10 µM)* <sup>3</sup>	- 0,20 µl
MgCl <sub>2</sub>	- 0,75 µl
Taq-Polymerase (5 U/µl)* <sup>1</sup>	- 0,3 µl

\*<sup>1</sup> Puffer und Enzym von Biomaster oder einem beliebigen anderen Lieferanten

\*<sup>2</sup> Nukleotide von Boehringer Mannheim oder einem beliebigen anderen Lieferanten

---

\*<sup>3</sup> equimolare Mengen von Primern, falls Gemische in einer Gesamtkonzentration vorwärts-Primer bzw. rückwärts-Primer von je 10 µM

Die PCR wurde in einem Perkin Elmer 9600 Thermocycler mit dem nachfolgend aufgeführten Thermoprofil durchgeführt:

initiale Denaturierung	95 °C	5 min
Amplifikation (35 Zyklen)	92 °C	1 min
	62 °C	1 min
	72 °C	30 s
finale Synthese	72 °C	5 min

Zur Identifikation der Familie der Enterobakterien wurden die in Tabelle 1 aufgelisteten Arten getestet. Die verwendeten Primerkombinationen und primerspezifischen Parameter sind in Tabelle 7 aufgelistet. Soweit mehr als ein vorwärts- oder rückwärts-Primer in Tabelle 7 angegeben ist, soll das jeweilige Gemisch verwendet werden.

Das Resultat der PCR wurde mittels Agarose-Gelelektrophorese und Anfärben mit Ethidiumbromid analysiert. Die Anwesenheit von PCR-Produkten ist indikativ für das Vorhandensein von Enterobakterien.

Die synthetisierten PCR-Produkte liegen meist in einer Größenordnung zwischen 400 und 750 Basenpaaren. Dabei können durchaus mehrere Banden auftreten, weil ribosomale Allele bei vielen bakteriellen Spezies heterogen sind. Die erhaltenen Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengefaßt und zeigen die umfassende Abgrenzung der Enterobakterien von Representanten anderer Taxa.

---

#### Beispiel 2): Nachweis einer bakteriellen Spezies am Beispiel von *Pantoea dispersa*

Aus Reinkulturen von Bakterien kann in an sich bekannten Standardverfahren genomische DNA isoliert werden. Je ca. 1 bis 100 ng dieser Präparationen können in einer PCR eingesetzt werden. Der Reaktionsansatz kann folglich die nachfolgende Zusammensetzung haben:

genomische DNA	- 1 µl
H <sub>2</sub> O	- 19,8 µl
Puffer (10x) * <sup>1</sup>	- 2,5 µl
dNTP (10 mM)* <sup>2</sup>	- 0,25 µl
vorwärts-Primer A (10 mM)* <sup>3</sup>	- 0,20 µl
rückwärts-Primer (10 mM)* <sup>3</sup>	- 0,20 µl
MgCl <sub>2</sub>	- 0,75 µl
Taq-Polymerase (5 U/µl)* <sup>1</sup>	- 0,3 µl

\*<sup>1</sup> Puffer und Enzym von Biomaster

\*<sup>2</sup> Nukleotide von Boehringer Mannheim oder einem beliebigen anderen Lieferanten

\*<sup>3</sup> equimolare Mengen von Primern, falls Gemische in einer Gesamtkonzentration vorwärts-Primer bzw. rückwärts-Primer von je 10 µM.

Zum Nachweis von *Pantoea dispersa* können die Primerkombinationen SEQ ID 2 + Primer x1, SEQ ID (3-6) + Primer x1 oder die komplementäre Sequenz zu Primer x1 + die komplementäre Sequenz zu SEQ ID 147 verwendet werden. Dabei entspricht Primer x1 dem Nucleotid CGTTGCCCCGCTCGCGCCGCTCAGTCAC.

Primer x1 ist eine Partialsequenz aus SEQ ID 108.

Die PCR kann in einem Perkin Elmer 9600 Thermocycler mit dem nachfolgend aufgeführten Thermoprofil durchgeführt werden:

---

initiale Denaturierung	95 °C	5 min
Amplifikation (35 Zyklen)	92 °C	1 min
	62 °C	1 min
	72 °C	20 s
finale Synthese	72 °C	5 min

Das Resultat der PCR kann mittels Agarose-Gelelektrophorese und Anfärben mit Ethidiumbromid sichtbar gemacht werden. Die synthetisierten PCR-Produkte liegen in einer Größenordnung von 370, 320 und 70 Basenpaaren. Die Abwesenheit von Amplifikaten ist indikativ für die Abwesenheit von genomischer DNA von *Pantoea dispersa*. Mit diesem experimentellen Ansatz lassen sich die in Tabelle 2 zusammengefaßten Ergebnisse erzielen.

### Beispiel 3): Verwenden einer Konsensus-PCR in der Chiptechnologie

#### 3a) Prinzip der Konsensus-PCR

In einer Konsensus-PCR, wie schematisch in Abb. 8 gezeigt, werden mindestens zwei sogenannte Konsensus-Primer (A1, A2) verwendet, die in der Lage sind DNA von mindestens zwei taxonomischen Einheiten nachzuweisen. Bei diesen kann es sich um Stämme, Arten oder auch höhere taxonomische Einheiten wie Reiche oder Klassen handeln. In dem Detektionssystem folgt in mindestens einem zweiten Nachweisschritt die Differenzierung der amplifizierten taxonomischen Einheiten mittels einer weiteren PCR und/oder mit Sonden. Die PCR-Primer (B1, B2) des zweiten, bzw. folgenden Amplifikationsschritts werden jeweils so gewählt, daß sie innerhalb des Amplifikationsproduktes liegen und für eine bestimmte taxonomische Einheit ein Nachweispotential haben. Durch Verwendung weiterer Primer (C, D, E....) kann ein Pool vieler taxonomischer Einheiten gegebenenfalls simultan eingeschränkt werden. Außerdem kann in einem Multiplex-Gemisch (z.B. A1a, A1b, A1c, ..... ) das Nachweispotential auf mehrere taxonomische Einheiten erweitert werden. Letzterer Fall liegt vor, wenn einzelne Nukleotide in einem Primer variieren oder die Primer völlig unterschiedlich sind. Die Nomenklatur der Konsensusprimer ist auch der Legende von Abb. 8 zu entnehmen.

Die Identifizierung von Amplifikationsprodukten kann durch die Primer erfolgen. Ein positiver Nachweis liegt dann vor, wenn die Primer die Ziel-DNA erkennen und

erfolgreich amplifizieren. Außerdem können Sonden einen spezifischen Nachweis leisten. Sie hybridisieren spezifisch an die amplifizierte DNA und erlauben durch direkte oder indirekte Koppelung an Farbstoffe den Nachweis einer bestimmten DNA-Sequenz. Alles in allem können Sonden in einer Vielzahl von dem Fachmann bekannten technischen Ausführungen eingesetzt werden. Genannt seien z.B. das Southern Blotting, die Lightcycler-Technologie mit fluoreszierenden Sonden oder die Chiptechnologie, in der beliebig viele Sonden in einem Microarray angeordnet werden.

Besonders vorteilhaft für das Gelingen der Konsensus-PCR ist, daß die Primer in der Reihe A, B, C... zunehmend spezifisch werden. Durch die Auswahl der DNA-Zielregion gemäß Abb. 2 ist dies gewährleistet.

Die Konsensus-PCR hat den Vorteil, daß sie den simultanen Nachweis von mehr als zwei taxonomischen Einheiten aus nur einer Nukleinsäureprobe, die entsprechend klein sein kann, erlaubt. Der Zahl der nachweisbaren Mikroorganismen läßt sich dabei auf verschiedenen Wegen erhöhen. So wächst das Nachweispotential eines Konsensusystems mit der Zahl der Primerspezies A, B, C, ... oder A1a, A1b, A1c, ..., wie sie in Abb. 8 definiert sind. Auch läßt sich ein PCR-Ansatz nach einer ersten Durchführung mit einem Primerpaar A1, A2 trennen und in separaten Ansätzen mit weiteren Primerpaaren B1a + B2a, bzw. B1b + B2b amplifizieren. Schließlich kann die Identität von PCR-Amplifikaten durch Hybridisierung mit Sonden festgestellt werden.

---

### 3b) Beispiel des Nachweises einer Gruppe von Gattungen der Enterobakterien

Aus Reinkulturen von Bakterien kann in an sich bekannten Standardverfahren genomische DNA isoliert werden. Je ca. 1 bis 100 ng dieser Präparationen können in einer PCR eingesetzt werden. Der Reaktionsansatz kann folglich die nachfolgende Zusammensetzung haben:

genomische DNA	- 1 µl
H <sub>2</sub> O	- 19,8 µl
Puffer (10x) * <sup>1</sup>	- 2,5 µl
dNTP (10 mM)* <sup>2</sup>	- 0,25 µl
vorwärts-Primer (10 µM)* <sup>3</sup>	- 0,20 µl
rückwärts-Primer (10 µM)* <sup>3</sup>	- 0,20 µl
MgCl <sub>2</sub>	- 0,75 µl
Taq-Polymerase (5 U/µl)* <sup>1</sup>	- 0,3 µl

\*<sup>1</sup> Puffer und Enzym von Biomaster

\*<sup>2</sup> Nukleotide von Boehringer Mannheim oder einem beliebigen anderen Lieferanten

\*<sup>3</sup> equimolare Mengen von Primern, falls Gemische in einer Gesamtendkonzentration vorwärts-Primer bzw. rückwärts-Primer von 10 µM.

Da in der Chiptechnologie i.d.R. sehr kleine Reaktionsvolumina verwendet werden, kann auch der obige Reaktionsansatz bei konstanten Konzentrationen reduziert werden. Eventuell ist auch eine Anpassung der PCR-Zykluszeiten erforderlich.

Für die Konsensus-PCR kann zunächst ein ribosomales DNA-Fragment amplifiziert werden. Dieser Vorgang kann spezifisch für größere taxonomische Einheiten sein, wie in Beispiel 1 beschrieben, wobei die dort beschriebenen Primer verwendet werden. Alternativ kann ein ribosomales DNA-Fragment von allen Bakterien amplifiziert werden. Ribosomale DNA eines sehr breiten taxonomischen Spektrums von Bakterien bietet z.B. die Verwendung der Primerkombination SEQ ID 211 + SEQ ID 212.

Die amplifizierte DNA wird nach Standardmethoden denaturiert und dadurch in einzelsträngige DNA überführt. Diese Form ist dazu geeignet an eine DNA, RNA oder PNA-Sonde zu binden. Entsprechend der Ausführungsform des Chips wird dann die Hybridisierung des Amplifikats mit der Sonde nachgewiesen. Alternativ kann ein Nachweis mittels eines ELISAs erfolgen. Die Sonde ist so beschaffen, daß sie eine den Anforderungen entsprechende Spezifität aufweist. Dementsprechend können Stämme, Gattungen oder größere taxonomische Einheiten nachgewiesen werden.

Tabelle 3 exemplifiziert den Nachweis einer Gruppe von Gattungen der Familie der Enterobakterien unter der Verwendung der Sonde GTTCCGAGATTGGTT als Teilsequenz von SEQ ID 164. Ein solcher Gruppennachweis ist in der Chiptechnologie besonders sinnvoll, wenn verschiedene Gruppennachweise miteinander überschneiden. In der Schnittmenge kann dann der Nachweis einer einzelnen Art oder von Gruppen von Arten, die z.B. für Lebensmitteluntersuchungen relevant sind, erfolgen.

---

### 3c) Verwendung der Konsensus-PCR zum Nachweis aller Bakterien

Zum Nachweis aller Bakterien werden in einer ersten Amplifikationsrunde Konsensus-Primer verwendet, die stark konserviert sind. Geeignet zur Sequenzauswahl sind Regionen, die peripher in dem ribosomalen Abschnitt gemäß Abb. 2 liegen. Sie ist demzufolge homolog zu den Bereichen der SEQ ID 1 beginnend bei Position 2571 bzw. endend bei Position 3112. Besonders geeignet aus dieser Region für eine generelle Amplifikation sind z.B. die Primer SEQ ID 211 (z.B. als Primer A1a) und SEQ ID 212 (z.B. als Primer A2a). Außerdem lassen sich leicht weitere Primer (A1b, A1c, .... bzw. A2b, A2c, ....) ableiten, die in einer Multiplex-PCR einen beliebig großen taxonomischen Bereich der Eubacteria erfassen. In dieser Nomenklatur sind die Primer A1 und A2 Primerpaare, B und C..... verschachtelte Primer bzw. A1a und A1b homologe oder ähnliche Primer.

Durch die Verwendung verschachtelter Primer (B, C, D, .....), kann eine erste Differenzierung erfolgen. Dieses kann zudem unterstützt werden, indem der primäre PCR-Ansatz geteilt wird, wobei dann in jedem separaten PCR-Ansatz z.B. ein Primerpaar B, bzw. C bzw. D usw. eingesetzt wird. Diese Verschachtelung ist deshalb besonders vorteilhaft, weil der ribosomale Bereich gemäß Abb. 8 von außen nach innen zunehmend variabel ist, wie es auch in Tab. 6 beschrieben ist. Sonden können dann vorzugsweise zur abschließenden Differenzierung und Identifizierung genutzt werden. Wenn z.B. Stämme oder Arten nachgewiesen werden sollen, dann sollte die Sonde zentral in Bereich 7 gemäß Abb. 2 hybridisieren.

---

In Tabelle 8 werden viele Polynukleotide zum Nachweis von Gattungen und Arten oder Stämmen in einer Konsensus-PCR zur Verfügung gestellt. Die Verwendung der Primer Nr. 1 aus Tabelle 8 wurde bereits ausführlich in Beispiel 1 beschrieben.



Die Polynukleotide folgen in ihren Eigenschaften der Charakterisierung aus Tabelle 6, bzw. Abb. 2. Das bedeutet, daß Primer A1 dem Bereich 1 aus Tabelle 6, bzw. Abb. 2 zugeordnet werden können, Primer A2 dem Bereich 2 ..... , Primer B2 dem Bereich 8 und Primer A2 dem Bereich 9. Entsprechend diesem Konzept können die Primer A1-G1 aus Tabelle 8 als Vorwärtsprimer verwendet werden während die Primer B2 und A2 als Rückwärtsprimer genutzt werden können. Die Sequenzen für die letzteren beiden Primertypen müssen zu diesem Zweck konvertiert werden (Ausnahme Nr. 1 Tabelle 8). Als art- oder gattungsspezifische Sonden lassen sich besonders die "Primer H1" verwenden.

Das hierzu beschriebene Schema einer Konsensus-PCR ist nicht zwingend notwendig für einen erfolgreichen Nachweis. Im Prinzip können die in Tabelle 8 aufgelisteten Polynukleotide in jeder beliebigen Kombination eingesetzt werden. In der Praxis ist zunächst zu klären, welche Bakterien als "unerwünscht" im Nachweis ausgegrenzt werden sollen. Je nach Problemstellung kann dann abweichend von dem gezeigten Schema eine einfachere PCR-Version gewählt werden. Die einfachste Form der Konsensus-PCR besteht dementsprechend aus nur zwei Primern entsprechend den Sequenzen aus Tabelle 8, bzw. komplementären Sequenzen dazu.

Viele der in Tabelle 8 aufgelisteten konservierten Primer haben das Potential die DNA von höheren taxonomischen Einheiten, wie Klassen, Abteilungen oder Familien nachzuweisen. Wie Tabelle 6 zu entnehmen ist trifft dies insbesondere auf die peripheren Primer A oder homologe Sequenzen von SEQ ID 211 + SEQ ID 212 zu.

---

~~In Tabelle 8 wird ein breiteres Nachweispotential für eine oder mehrere Gattungen~~  
 oder Arten insbesondere durch die redundante Aufzählung der Sequenzen angezeigt. Falls nur eine Sequenz für eine Gattung explizit aufgezählt wird, so können zum Nachweis zwei Primer aus dieser Sequenz gewählt werden. Auch ist es möglich allgemeine Primer, z.B. Primer A von verwandten Gattungen, für die betreffende Bakterienklasse zu wählen und aus einer spezifischen Sequenz, z.B. "Primer h1" ei-

ne Sonde zu entwerfen. Soweit die Sequenzen sehr lang sind können Nukleotidfragmente von mindestens 15 Basen Länge aus diesen gewählt werden.

### 3d) Ausführung der Konsensus-PCR für die Chiptechnologie

Die konkrete Ausführung der Konsensus-PCR wird im wesentlichen bestimmt durch die erwartete Zahl der nachzuweisenden taxonomischen Einheiten. Da die Konsensus-PCR in ihrer komplexesten Form auch eine Multiplex-PCR darstellt, kann in einem Reaktionsansatz nur eine limitierte Zahl von Bakterien bestimmt werden. Erfahrungsgemäß liegt diese Zahl unter 20. Aus diesem Grunde kann es vorteilhaft sein verschiedene PCR-Ansätze mit der gleichen Probe und unterschiedlichen Primern A, B etc. (Nomenklatur nach Abb. 8) durchzuführen.

Aus natürlichen Proben werden Bakterien zunächst angereichert oder mit an sich bekannten Standardverfahren wird genomische DNA direkt aus ihnen isoliert. Je ca. 1 bis 100 ng dieser Präparationen können in einer PCR eingesetzt werden. Der Reaktionsansatz kann folglich die nachfolgende Zusammensetzung haben:

genomische DNA	- 1 µl
H <sub>2</sub> O	- 19,8 µl
Puffer (10x) * <sup>1</sup>	- 2,5 µl
dNTP (10 mM)* <sup>2</sup>	- 0,25 µl
forwärts-Primer (10 mM)* <sup>3</sup>	- 0,20 µl
rückwärts-Primer (10 mM)* <sup>3</sup>	- 0,20 µl
MgCl <sub>2</sub>	- 0,75 µl
Taq-Polymerase (5 U/µl)* <sup>1</sup>	- 0,30 µl

\*<sup>1</sup> Puffer und Enzym von Biomaster

\*<sup>2</sup> Nukleotide von Boehringer Mannheim oder einem beliebigen anderen Lieferanten

\*<sup>3</sup> equimolare Mengen von Primern, falls Gemische in einer Gesamtendkonzentration der Primer 10  $\mu\text{M}$ . Primer können z.B. entworfen und kombiniert werden wie unter 3c beschrieben.

Da in der Chiptechnologie i.d.R. sehr kleine Reaktionsvolumina verwendet werden, kann auch der obige Reaktionsansatz bei konstanten Konzentrationen reduziert werden. Eventuell ist auch eine Anpassung der PCR-Zykluszeiten erforderlich.

Nach den Amplifikationsrunden wird die DNA vereinigt. Auf einem Chip werden Sonden, in einer spezifischen Ausführungsform aus den Sequenzen der Spalte "Primer H1" der Tabelle 8 ausgewählt werden können, immobilisiert. Technische Verfahren hierzu sind dem Fachmann bekannt. Die vereinigte DNA wird 1:1 mit Denaturierungspuffer (Bsp. 4) verdünnt und eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wird das zehnfache Volumen Hybridisierungspuffer (Bsp. 4) dazugegeben und die Lösung langsam bei 37-60° C über den Chip, das heißt die mit Sonden behaftete Oberfläche, geleitet. Die so behandelte Chipoberfläche wird anschließend mit Waschpuffer (Bsp. 4) mindestens 2 min bei 37-60° C dreimal gewaschen. Abschließend kann die Detektion erfolgen. Hierzu können Primer verwendet werden, die mit einem Fluoreszenzfarbstoff gekoppelt sind. Die Fluoreszenz kann dann mit einem Detektor, z.B. einer CCD-Kamera wahrgenommen werden. Es gibt jedoch viele verschiedene alternative Detektionsmöglichkeiten. So ist es z.B. auch möglich die Bindung der einzelsträngigen Amplifikationsprodukte an die Sonden durch Oberflächen-Plasmon-Resonanz-Spektroskopie (SPR) zu verfolgen und zu quantifizieren. Letztere Methode hat den Vorteil, daß keine Farbstoffe zur Detektion verwendet werden müssen. Bei Nutzung der SPR sollte selbige so ausgelegt sein, daß die Detektion simultan auf den Bereichen der Oberfläche erfolgt, die die gleichen Sonden besitzen. Eine besonders vorteilhafte Ausführung liegt dann vor, wenn viele, d.h. mehr als 100 oder 1000 separate Detektionsflächen auf dem Chip angeordnet sind. Ein Ansteigen des SPR-Signals, verursacht durch die Nukleinsäure-Hybridisierung auf diesen Flächen, stellt ein positives Ergebnis dar. Auf diese Wei-

se lassen sich mit den in Tabelle 8 aufgelisteten Primern die dazugehörigen Bakterien, oder im Prinzip alle Bakterien nachweisen und gegebenenfalls quantifizieren.

#### Beispiel 4) Nachweis von Mikroorganismen mit Sonden

Sonden sind als Polynukleotide, d.h. als DNA, RNA, PNA oder in einer ähnlichen Ausführungsform, die dem Fachmann geläufig ist, grundsätzlich geeignet die Konzentrierung und den Nachweis von DNA oder RNA zu leisten. Sie liegen als einzelsträngige Moleküle vor oder werden durch Denaturieren, was z.B. durch Erhitzen oder mit Natronlauge entsprechend publizierten Standardprotokollen erreicht werden kann, in diese Form überführt.

Zum Nachweis von Mikroorganismen muß die DNA oder RNA derselben aus diesen isoliert und eventuell gereinigt werden. Eine hohe Effizienz der Nukleinsäureausbeute kann durch verschiedene Maßnahmen erreicht werden:

- 1) die Mikroorganismen können mit physikalischen Methoden, z.B. mit an magnetischen Partikeln gekoppelten Antikörpern oder durch Zentrifugieren ankonzentriert werden;
- 2) die DNA oder RNA der Mikroorganismen kann in einer PCR oder vergleichbaren Amplifikationsreaktion amplifiziert werden;
- ~~3) die eventuell amplifizierte DNA oder RNA der Mikroorganismen wird im Ver-~~  
laufe der Reinigung mit kommerziell erhältlichem Material beim Aufreinigen ankonzentriert.

Die Verbesserung der Effizienz der Nukleinsäureausbeute, insbesondere durch Amplifikation, kann selbst bedeutend zur Spezifität des Nachweises der Bakterien beitragen.

Es folgt anschließend ein Inkubationsschritt, in welchem die Sonden mit den nachzuweisenden Nukleinsäuren (sofern die nachzuweisenden Mikroorganismen vorhanden waren) ein Hybridmolekül bilden. Die Bildung des Hybridmoleküls erfolgt unter kontrollierten Bedingungen. Ebenso folgen Waschschrte mit Puffern unter Bedingungen (pH-Wert, Temperatur, Ionenkonzentration), die die spezifische Hybridisierung von Nukleinsäuren erlauben, während weniger spezifische und unerwünschte Hybridmoleküle dissoziieren.

Abschließend erfolgt die Detektion von Hybridmolekülen. Zur Detektion gibt es eine Vielzahl von Ausführungsformen, die dem Fachmann im Einzelnen bekannt sind. Zum Einsatz kommen Farbstoffe, eventuell fluoreszierende, die direkt oder indirekt an die Sonden oder die nachzuweisende DNA gekoppelt werden oder in diese inkorporiert werden. Dieses kann insbesondere auch in der Chiptechnologie oder der Lightcyclertechnologie der Fall sein. Darüber hinaus gibt es andere physikalische Verfahren, wie z.B. verstärkte Totalreflektion des Lichts (attenuated total reflection) an Grenzoberflächen mit zwei unterschiedlichen Dichten, die zur Anwendung bei der Detektion der Hybridmoleküle kommen können.

Die Auswertung der Detektion kann auf verschiedene Weisen erfolgen. In einem „alles oder nichts“-Nachweis kann das Hybridmolekül nur nachgewiesen werden, wenn die gesuchten Mikroorganismen vorhanden waren. Wenn also die zuvor erwähnte Amplifikationsreaktion mit den Nukleinsäuren der Mikroorganismen zu keiner Vermehrung der Nukleinsäuren geführt hat, dann werden auch keine Hybridmoleküle nachweisbar sein. Wurden jedoch „unerwünschte“ Nukleinsäuren amplifiziert oder waren diese in großer Menge vorhanden, dann kann durch die Stringenzbedingungen bei der Hybridisierung ein Ausschluß dieser Nukleinsäuren erfolgen. Außerdem ermöglicht die Quantifizierung der Hybridmoleküle eine Feinabstimmung der Spezifität des Nachweises, indem ein Grenzwert für den positiven Nachweis festgelegt wird.

- Alle in diesem Patent spezifizierten Nukleinsäuren sind grundsätzlich als Sonde verwendbar. Ein Extrakt möglicher Sonden ist insbesondere in Tabelle 3 aufgelistet. Die Nukleinsäuren leisten den Nachweis der in der Tabelle genannten Gattungen und die Abgrenzung gegen alle anderen Gattungen der Eubakterien.

Nachfolgend sei exemplifiziert wie die hierzu spezifizierten DNA-Bereiche als Sonden zum Nachweis von Mikroorganismen eingesetzt werden können. In diesem Beispiel wird ein ELISA-Verfahren zur Detektion verwendet. Dabei werden Nukleinsäuren mittels einer enzymatischen Farbreaktion, die in Mikrotiterplatten abläuft, nachgewiesen.

Im vorliegenden Beispiel wird die DNA zunächst in einer PCR-Reaktion amplifiziert. Dabei werden Primer verwendet, die mit Digoxigenin gekoppelt sind. Anschließend wird eine mit Streptavidin beschichtete Mikrotiterplatte mit einer biotinmarkierten Sonde beladen, so daß es zu einer Kopplung der Sonden an die Plattenoberfläche kommt. Die alkalisch denaturierten PCR-Amplifikate hybridisieren in einer 30-minütigen Reaktion mit den Sonden. Das 5'-Digoxigenin markierte Ende der Amplifikate dient nun als Antigen für einen spezifischen Antikörper, welcher wiederum an das Enzym Peroxidase gekoppelt ist. Nach Zugabe von Tetramethylbenzidin kommt es zur Bildung eines blauen Farbstoffs. Die Entstehung dieses Farbstoffes wird mit 0,5 molarer Schwefelsäure gestoppt. Gleichzeitig schlägt die Farbe aufgrund der Verschiebung des pH-Wertes nach gelb um. Die Intensität der Absorption wird im ELISA-Reader bei 450 nm gemessen.

Zur Durchführung des ELISA werden die nachfolgenden Reagenzien angesetzt:

- Hybridisierungspuffer (2,5x SSC)
 

2,5 x SSC	62,5 ml von 20 x SSC (s. unten)
2 x Denhardts	20 ml von 50 x Denhardts (s. unten)

10 mM Tris (Gibco, Nr. 15504-038)      5 ml von 1 M Tris  
 1 mM EDTA (Fluka, Nr. 03699)      1 ml von 0,5 M EDTA  
 mit bidest. Wasser auf 0,5 l auffüllen und pH 7,5 einstellen

– Waschpuffer 1

1 x SSC      50 ml von 20 x SSC (s. unten)  
 2 x Denhardts      40 ml von 50 x Denhardts (s. unten)  
 10 mM Tris (Gibco, Nr. 15504-038)      10 ml von 1 M Tris  
 1 mM EDTA (Fluka, Nr. 03699)      2 ml von 0,5 M EDTA  
 mit bidest. Wasser auf 1 l auffüllen und pH 7,5 einstellen

– Waschpuffer 2

100 mM Tris (Gibco, Nr. 15504-038)      12,15 g  
 150 mM NaCl (Merck, Nr. 6404.5000)      8,78 g  
 0,05% Tween 20 (Serva, Nr. 37470)      0,5 g  
 0,5% Blocking Reagenz (Boehringer) 5g in D1 (s. unten) bei 60°C lösen  
 10 µg/ml Heringsperma      10 ml von der Stammlösung mit 10mg/ml  
 mit bidest. Wasser auf 1 l auffüllen und pH 7,5 einstellen

Denaturierungspuffer

125 mM NaOH (Fluka, Nr. 71690)      0,5 g  
 20 mM EDTA (Fluka, Nr. 03699)      0,745 g  
 mit bidest. Wasser auf 0,1 l auffüllen

– Kopplungspuffer

10 mM Tris (Gibco, Nr. 15504-038)      10 ml von 1 M Tris  
 1 mM EDTA (Fluka, Nr. 03699)      2 ml von 0,5 M EDTA  
 100 mM NaCl (Merck, Nr. 6404.5000)      5,88 g  
 0,15 % Triton X 100 (Chemikalienlager)      15 ml  
 mit bidest. Wasser auf 1 l auffüllen und pH 7,5 einstellen

- Stoppreagenz (0,5M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)
 

95%ige H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	14 ml
---------------------------------------	-------

 mit bidest. Wasser auf 0,5 l auffüllen
  
- 50 x Denhardts
 

Ficoll 400 (Pharmacia Biotech, Nr. 17-0400-01)	5 g
Polyvinylpyrrolidon (Sigma, Nr. P-2307)	5 g
Rinder-Serumalbumin	5 g

 mit bidest. Wasser auf 0,5l auffüllen
  
- 20 x SSC
 

NaCl (Merck, Nr. 106404.1000)	350,36 g
Natriumcitrat (Trinatriumcitratdihydrat, Fluka, Nr. 71404)	176,29 g

 mit bidest. Wasser auf 2 l auffüllen und pH 7,0 einstellen
  
- D 1
 

100 mM Maleinsäure (Fluka, Nr. 63190)	11,62 g
150 mM NaCl (Merck, Nr. 106404.1000)	8,76 g
NaOH (Fluka, Nr. 71690)	ca. 7,5 g

 mit bidest. Wasser auf 2 l auffüllen und pH 7,0 einstellen

#### Durchführung des ELISA:

---

Pro Kavität werden 200 µl Bindungspuffer und 1 µl Sonde aufgetragen. Die Mikrotiterplatte wird mit einer Klebefolie abgedeckt und zwei Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen. Die zu untersuchenden PCR-Amplifikate werden bei Raumtemperatur aufgetaut und im Verhältnis 1:1 mit Denaturierungspuffer versetzt und 10 min bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend werden 10 ml dieser Probe in die zwischenzeitlich entleerten Kavitäten gefüllt. Zusätzlich werden in jede Kavi-



tät je 100 µl Hybridisierungspuffer gegeben und 30 min bei 37-60° C inkubiert. Zum Waschen werden die Kavitäten entleert und mit 200 ml Waschpuffer 1, der auf 37-60° C vorgeheizt wurde, gefüllt und 2 min bei der gleichen Temperatur inkubiert. Dieser Waschschrift wird dreimal durchgeführt.

Nachdem der Waschpuffer sorgfältig entfernt wurde, wird der Anti-Dig-POD-Antikörper (DAKO) 1:3000 verdünnt (1 ml in 3 ml Waschpuffer 2) und jeweils 100 ml dieser Lösung in die trockenen Kavitäten gefüllt. Diese Anordnung wird bei 37°C im Brutschrank für 30 Minuten inkubiert.

Anschließend wird die Mikrotiterplatte dreimal mit 200 ml Waschpuffer 2 je Vertiefung gewaschen. Pro Kavität werden nun 100 ml des Farbstoffs BM blue (Boehringer) hinzugegeben. Nach 15 min wird die Reaktion durch Zugabe von 100 ml 0,5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gestoppt. Die Extinktion der Proben wird im ELISA-Reader quantifiziert.

In dem oben beschriebenen Verfahren lassen sich die in Tabelle 4 zusammengefaßten Sonden zum Nachweis der aufgeführten Arten verwenden.

---

Beispiel 5): Allgemeine Nutzbarkeit der in diesem Patent spezifizierten DNA-Regionen zum Nachweis von Bakterien

Die hierin spezifizierten ribosomalen DNA-Regionen, insbesondere wenn sie mit dem 23S-5S ribosomalen Spacer kombiniert werden, sind geeignet Eubakterien nachzuweisen. Der Fachmann ist in der Lage sehr schnell mit Hilfe der Sequenzen unter SEQ ID 1-530 oder unter Fokussierung auf die genannte ribosomale DNA-Region bakterielle taxonomische Einheiten seiner Wahl schnell zu identifizieren.

Nachfolgend ist ein möglicher Weg exemplifiziert, der die generelle Nutzbarkeit der vorliegenden Erfindung für alle eubakteriellen Spezies eröffnet.

Der hier beschriebene Weg umfaßt im wesentlichen 3 Schritte. Im ersten wird eine ribosomale Region, ungefähr umfassend die letzten 330-430 Nukleotide des 23S-Gen, der nachfolgend transkribierten Spacer und das ribosomale 5S-Gen amplifiziert. Da diese Region bei den verschiedenen eubakteriellen Spezies längenvariabel ist, hat sie eine Ausdehnung von insgesamt 400 bis ca. 750 Nukleotiden. Soweit die DNA-Sequenz noch nicht bekannt ist, kann es vorteilhaft sein, diese für die nachzuweisende und einige nahe verwandte abzugrenzende Spezies zu bestimmen. Aus einem Sequenzvergleich kann der Fachmann leicht die besten Oligonukleotide bestimmen, die den gewünschten Nachweis, z.B. als PCR-Primer oder Sonde leisten. Im vorliegenden Beispiel werden auf diese Weise sowohl Primer als auch Sonden ausgewählt. Alternativ können auch die hierin genannten Sequenzen direkt für ein breites Spektrum von Bakterien genutzt werden, insbesondere wenn die Stringenzbedingungen der PCR und/oder der Hybridisierung geeignet gewählt werden.

A) Amplifikation ribosomaler DNA

Der zu verwendende DNA-Abschnitt läßt sich aus genomischer bakterieller DNA der Proteobakterien und vieler anderer bakterieller Klassen mit den Primern SEQ ID 211 und 212 amplifizieren. Sollte es bei der Amplifikation von DNA anderer Klas-

sen Probleme geben, so werden Primer, die aus DNA-Regionen, welche der SEQ ID 211 und 212 entsprechen, abgeleitet sind, zum Erfolg führen.

Aus Reinkulturen der in Tabelle 5 aufgeführten Bakterien wird in an sich bekannten Standardverfahren genomische DNA isoliert. Je ca. 1 bis 100 ng dieser Präparationen wird dann in eine PCR eingesetzt. Der Reaktionsansatz hat die nachfolgende Zusammensetzung:

genomische DNA	- 1 µl
H <sub>2</sub> O	- 19,8 µl
Puffer (10x) * <sup>1</sup>	- 2,5 µl
dNTP (10 mM)* <sup>2</sup>	- 0,25 µl
vorwärts-Primer (10 mM)* <sup>3</sup>	- 0,20 µl
rückwärts-Primer (10 mM)* <sup>3</sup>	- 0,20 µl
MgCl <sub>2</sub>	- 0,75 µl
Taq-Polymerase (5 U/µl)* <sup>1</sup>	- 0,3 µl

\*<sup>1</sup> Puffer und Enzym von Biomaster oder einem beliebigen anderen Lieferanten

\*<sup>2</sup> Nukleotide von Boehringer Mannheim oder einem beliebigen anderen Lieferanten

\*<sup>3</sup> equimolare Mengen von Primern, falls Gemische in einer Gesamtkonzentration vorwärts-Primer bzw. rückwärts-Primer von je 10 µM

---

Die PCR wird in einem Perkin Elmer 9600 Thermocycler mit dem nachfolgend aufgeführten Thermoprofil durchgeführt:

initiale Denaturierung	95 °C	5 min
Amplifikation (35 Zyklen)	92 °C	1 min
	52 °C	1 min
	72 °C	30 s

finale Synthese

72 °C

5 min

Genomische DNA, die zur Amplifikation verwendet werden kann, ist in Tabelle 5 beispielhaft aufgelistet.

B) Gattungs- und speziesspezifische Amplifikation eines Unterbereichs des Produkts von A)

Das unter A) amplifizierte DNA-Produkt kann direkt zum Nachweis von Bakterien, insbesondere unter Verwendung spezifischer Sonden, genutzt werden. Es kann vorteilhaft sein, einen Teilbereich dieser Sequenz primär zu amplifizieren, wenn durch diesen Vorgang eine Beschränkung auf eine kleinere systematische Einheit der Bakterien, wie Arten, Gattungen oder Familien erreicht werden soll. Zumindest ein Teil der Differenzierungsleistung kann dann bereits durch die Amplifikationsprimer erbracht werden. Der unter A) amplifizierte Bereich bietet eine Vielzahl von Subregionen, die spezifische Differenzierungsleistungen erbringen. Der Fachmann wird leicht diese Regionen durch einen Vergleich der Sequenzen von zu identifizierenden Bakterien mit nahe verwandten Bakterien erkennen.

In vorliegenden Beispiel wurden als Regionen für spezifische Primer der Beginn des 23S-5S transkribierten Spacers und das Ende desselben ausgewählt. Die konkreten Sequenzen und die Herkunft der Primer ist in Tabelle 5 zusammengefaßt. Aus ~~einem Vergleich der Sequenzen ist zu erkennen, daß sie im wesentlichen einen spe-~~ziesspezifischen Nachweis leisten. Eine Ausnahme bilden die Primer für die Vibrio-Spezies, die auch schon einen gattungsspezifischen Nachweis erlauben. In den vorwärts-Primern ist insbesondere für Enterobakterien die Sequenz CGAAG...TTTT und in den rückwärts-Primern die Sequenz AACAGAATTT konserviert. Es gibt nun zwei Möglichkeiten die Spezifität der Primer auf Gattungen und Gruppen von Gattungen, z.B. aus den Enterobakterien, zu erweitern: erstens können die Annealing-

temperaturen der PCR erniedrigt werden. Zweitens können die Sequenzen der vorwärts-Primer in Richtung 23S-Gen und der rückwärts-Primer in Richtung 5S-Gen verschoben werden. Das Resultat sind Primer, deren Sequenzen weniger speziesvariabel sind. Die konkrete Ausführung kann dabei an die Anforderungen des Nachweises ausgerichtet werden. Hier sei der speziesspezifische Nachweis mit den Primern der Tabelle 5 durch PCR-Amplifikation exemplifiziert.

Aus Reinkulturen der in Tabelle 5 aufgeführten Bakterien wird in an sich bekannten Standardverfahren genomische DNA isoliert. Je ca. 1 bis 100 ng dieser Präparationen wird dann in eine PCR eingesetzt. Der Reaktionsansatz hat die nachfolgende Zusammensetzung:

genomische DNA	- 1 µl
H <sub>2</sub> O	- 19,8 µl
Puffer (10x) * <sup>1</sup>	- 2,5 µl
dNTP (10 mM)* <sup>2</sup>	- 0,25 µl
vorwärts-Primer (10 mM)* <sup>3</sup>	- 0,20 µl
rückwärts-Primer* (10 mM)* <sup>3</sup>	- 0,20 µl
MgCl <sub>2</sub>	- 0,75 µl
Taq-Polymerase (5 U/ml)* <sup>1</sup>	- 0,3 µl

---

\*<sup>1</sup> Puffer und Enzym von Biomaster oder einem beliebigen anderen Lieferanten

\*<sup>2</sup> Nukleotide von Boehringer Mannheim oder einem beliebigen anderen Lieferanten

\*<sup>3</sup> vorwärts-Primer A und rückwärts-Primer\* sind in Tabelle 5 aufgelistet, equimolare Mengen von Primern, falls Gemische in einer Gesamtkonzentration der Primer von je 10 µM

rückwärts-Primer\* weisen die komplementäre Sequenz zu rückwärts-Primern nach Tabelle 5 auf

Die PCR wird in einem Perkin Elmer 9600 Thermocycler mit dem nachfolgend aufgeführten Thermoprofil durchgeführt:

initiale Denaturierung	95 °C	5 min
Amplifikation (35 Zyklen)	92 °C	1 min
	* 45-72 °C	1 min
	72 °C	30 s
finale Synthese	72 °C	5 min

\* Die Annealingtemperatur kann nach den allgemein verwendeten Formeln für PCR-Primer bestimmt werden.

Das Ergebnis der Amplifikation ist in Tabelle 5 aufgelistet, d.h. der speziesspezifische Nachweis von Bakterien unter Verwendung der Primer der Tabelle 5 führt zur Identifikation der den Primern in dieser Tabelle zugeordneten Bakterien. Die Verwendung von allgemeineren Primern hingegen, deren Entwurf zuvor beschrieben wurde, kann zum Nachweis aller enterobakteriellen Gattungen oder oder zum Nachweis aller Gattungen des  $\gamma$ -Zweiges der Proteobakterien führen.

#### C) Weitere Spezifizierung des Nachweises durch Verwendung von Primern oder Sonden aus dem 23S-5S ribosomalen Spacer

---

Soweit nach den Schritten A) und/oder B) eine Amplifikation von DNA höherer taxonomischer Einheiten erfolgte kann anschließend durch die Auswahl von Sonden eine weitere Differenzierung des Nachweises erfolgen. Zum artspezifischen Nachweis kann ein variabler DNA-Bereich, z.B. ein zentraler Bereich des 23S-5S transkribierten Spacers verwendet werden. Die Sonden können dabei z.B. in einen Chip

integriert sein oder im Rahmen der Lightcyclertechnologie oder in einem ELISA verwendet werden. In letzterem Fall kann das ELISA-Protokoll von Beispiel 4 Anwendung finden. Die Resultate des speziesspezifischen Nachweises von Bakterien entsprechen dabei der Auswahl des 23S-5S transkribierten Spacers, da dieser zum Großteil speziesspezifische Sequenzbereiche aufweist. Bei Verwendung der Primer aus Tabelle 5 und Nutzung der entsprechenden Spacer (Spalte SEQ ID aus Tabelle 5) ist somit die Identifikation der in dieser Tabelle aufgelisteten Arten zu erreichen.

#### Erläuterungen verwendeter Begriffe:

##### Ableiten von DNA-Sequenzen:

Um ein Poly- oder Oligonukleotid, das zum Nachweis von taxonomischen Einheiten verwendet werden soll, zu finden und zu entwickeln, kann es von einer oder mehreren DNA-Sequenzen abgeleitet werden. Im Fall von mehreren Sequenzen ist dabei ein Alignment der Sequenzen, also ein Vergleich, vorteilhaft. Abgeleitete Oligonukleotide können zur ursprünglichen Sequenz identisch sein. Sie können außerdem einen Konsensus aus einer Menge von Variablen darstellen. In diesem Fall werden die Nukleotide des Polymers entsprechend den häufigsten oder vorherrschenden Bausteinen an einer bestimmten Position der analysierten Sequenzen ausgewählt.

Außerdem ist es möglich in einer zu entwickelnden Sequenz Variablen gemäß der Definition "Nukleotide" zu wählen. Die aus diesen variablen Sequenzen resultierenden DNA- oder RNA-Polymere stellen folglich ein Gemisch von Molekülen dar, das an den Positionen der Variablen alle erlaubten Nukleotide aufweist.

---

##### Analoge DNA-Sequenzen:

Analoge DNA-Bereiche haben die gleiche Funktion oder eine ähnliche Lokalisation wie eine vorgegebene Sequenz, sind jedoch nicht auf den gleichen phylogenetischen Ursprung zurückzuführen. Ein Beispiel ist gegeben mit dem transkribierten Spacer zwischen 5 S rDNA und 23 S rDNA, wenn er keine Ähnlichkeit mit einem zu vergleichenden transkribierten Spacer gleicher Lokalisation aufweist. Das ist mög-

lich, weil er bei entfernt verwandten Organismen häufig so variabel ist, daß eine stammesgeschichtliche Abstammung oder Homologie nicht mehr feststellbar ist. Der obige transkribierte Spacer ist jedoch als DNA-Sequenz und in seiner Funktion als transkribierter Spacer oder in seiner Lokalisation eindeutig definierbar, da er am Ende des kodierenden Bereiches der 23 S rDNA beginnt und am Anfang der 5 S rDNA endet.

#### Benachbarte Gene:

Gene sind benachbart, wenn sie durch kein anderes Gen getrennt sind oder wenn dieses bei zwei bestimmten Genen für den größten Teil der untersuchten Spezies zutrifft. Eine Trennung liegt nur dann vor, wenn ein weiteres Gen zwischen zwei anderen Genen liegt.

#### Enterobakterien

Die Enterobakterien sind eine Familie des  $\gamma$ -Zweiges der Proteobacteria. Der Begriff involviert alle taxonomischen Einheiten der Familie, insbesondere die Gattungen *Alterococcus*, *Aquamonas*, *Aranicola*, *Arsenophonus*, *Brenneria*, *Budvicia*, *Cedecea*, *Calymmatobacterium*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Escherichia*, *Ewingella*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Kluyvera*, *Koserella*, *Leclercia*, *Moellella*, *Morganella*, *Pantoea*, *Phlomobacter*, *Photorhabdus*, *Plesiomonas*, *Proteus*, *Providencia*, *Rahnella*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Wigglesworthia*, *Xenorhabdus*, *Yersinia*, *Yokenella*.

---

#### Eubakterien

Die Eubakterien bilden neben den Archaeobakterien ein Reich der Prokaryonten. Hierzu wurden "Bakterien" oder "Eubakterien" synonym verwendet. Mit dem Begriff sind alle taxonomischen Einheiten innerhalb dieses Reiches gemeint. Zu den Eubakterien gehören z.B. die Aquificales, Aquificaceae, Desulfurobacterium-Gruppe, Chlamydiales, Verrumicrobia-Gruppe, Chlamydiaceae, Simkaniaceae, Waddliaceae, Verrumicrobia, Verrumicrobiales, Coprothermobacter-Gruppe, Cya-



nobacteria, Chroococcales, Nostocales, Oscillatoriales, Pleurocapsales, Prochlorophytes, Stigonematales, Cytophagales, Gruppe der grünen Schwefelbakterien, Bacteroidaceae, Cytophagaceae, Flavobacteriaceae, Flexibacter-Gruppe, Hymenobacter-Gruppe, Rhodothermus-Gruppe, Saprospira-Gruppe, Sphingobacteriaceae, Succinovibrionaceae, Grüne Schwefelbakterien, Fibrobacter, Acidobacterium-Gruppe, Fibrobacter-Gruppe, Firmicutes, Actinobacteria, Acidomicrobidae, Actinobacteridae, Coriobacteridae, Rubrobacteridae, Sphaerobacteridae, Bacillus-Gruppe, Clostridium-Gruppe, Lactobacillus-Gruppe, Streptococcus-Gruppe, Clostridiaceae, Haloanaerobiales, Heliobacterium-Gruppe, Mollicutes, Sporomusa-Zweig, Syntrophomonas-Gruppe, Thermoanaerobacter-Gruppe, Flexistipes-Gruppe, Fusobacteria, Grüne Nicht-Schwefelbakterien, Chloroflexaceae-Gruppe, Chloroflexaceae, photosynthetische Flexibakterien, Holophaga-Gruppe, Nitrospira-Gruppe, Planctomycetales, Planctomycetaceae, Proteobacteria, Purpur-Nichtschwefelbakterien, Alpha-Unterabteilung der Proteobakterien, Beta-Unterabteilung der Proteobakterien, Gamma-Unterabteilung der Proteobakterien, Delta/Epsilon-Unterabteilung der Proteobakterien, Spirochetales, Leptospiraceae, Spirochaetaceae, Synergistes-Gruppe, Thermodesulfobacterium-Gruppe, Thermotogales, Thermus-Gruppe oder Deinococcus-Gruppe.

#### Gen:

Das Gen umfaßt den offenen Leserahmen oder kodierenden Bereich einer DNA. Es kodiert somit ausschließlich für ein Protein. Auch das Cistron ist ein Gen, das zusammen mit anderen Cistrons jedoch auf einer mRNA liegt. DNA-Regionen, die die Transkription des Gens regulieren, wie der Promotor, Terminator, Enhancer gehören ebenfalls zum Gen. Wenn in diesem Patent vereinfachend vom 23 S rDNA-Gen und 5 S rDNA-Gen die Rede ist, so geschieht dies in Anlehnung an übliche Bezeichnungen. Gemäß unserer Definition sei das 23S-rDNA-Gen oder das 5S-rDNA-Gen jedoch kein Gen, sondern ein eigenständiger funktioneller DNA-Abschnitt, da er nicht für ein Protein kodiert und nicht in Codons unterteilt werden kann.

### Transkribierter Spacer:

Der hierin schwerpunktmäßig behandelte transkribierte Spacer liegt hinter dem kodierenden Bereich des 23 S rDNA-Gens und vor dem kodierenden Bereich des 5 S rDNA-Gens. In seiner systematischen Einordnung nimmt er eine Sonderstellung ein. Da er transkribiert wird, also Bestandteil der mRNA und eines biologisch inaktiven Vorläufermoleküls, der prae-rRNA, ist, gehört er nicht zum intergenischen Bereich. Das Vorläufermolekül wird durch Ausschneiden des transkribierten Spacer in ein im ribosomalen Kontext biologisch aktives Molekül verwandelt. Andererseits läßt er sich funktionell oder phylogenetisch auch nicht eindeutig dem 23 S-Gen oder 5 S-Gen zuordnen. Da der Genbegriff in diesem Fall zur Klassifizierung offensichtlich nicht herangezogen werden kann, sei der "transkribierte Spacer" der ribosomalen Operons gleichberechtigt zu dem "Gen" und der "intergenischen Region" eine eigenständige funktionelle DNA-(RNA-) Klasse.

### Homologe DNA-Sequenzen

DNA oder RNA-Sequenzen sind dann homolog, wenn sie den gleichen phylogenetischen Ursprung haben. Das kann daran zu erkennen sein, daß mindestens 40 % der Nukleotide in einem DNA-Abschnitt identisch sind. In einem größeren DNA-Abschnitt können variable Abschnitte vorliegen. In dem Fall ist es ausreichend, wenn die phylogenetische Verwandtschaft angezeigt wird durch das Vorhandensein einer 25 Nukleotide langen Sequenz, die mindestens zu 60 % identisch ist mit einer anderen 25 Nukleotide langen Sequenz der zu vergleichenden DNA. Außerdem können homologe Sequenzen häufig am besten erkannt werden, wenn ein Vergleich mit nahe Verwandten Organismen erfolgt. Zum Erkennen der Homologie von Sequenzen fern verwandter Organismen ist dann ein sequentieller Vergleich mit Sequenzen von Arten erforderlich, die den Abstand zu den fern verwandten phylogenetisch überbrücken.

### Identische DNA-Sequenzen / Prozent Identität

Zur Bestimmung der Identität (im Sinne von vollständiger Übereinstimmung, entsprechend 100 % Identität) von DNA oder RNA-Sequenzen werden Teilsequenzen eines größeren Polynukleotids betrachtet. Diese Teilsequenzen umfassen 10 Nukleotide und sind dann identisch, wenn alle 10 Bausteine bei zwei Vergleichssequenzen identisch sind. Die Nukleotide Thymidin und Uridin seien identisch. Als Teilsequenzen können alle möglichen Fragmente eines größeren Polynukleotids betrachtet werden.

Dabei liegt 90 % Identität vor, wenn in den beiden zu vergleichenden Sequenzen in einem Abschnitt 9 von 10 Nukleotide bzw. 18 von 20 Nukleotide identisch sind.

Als Beispiel seien zwei Polynukleotide betrachtet, die 20 Nukleotide umfassen und sich in dem 5. Baustein unterscheiden. In einem Sequenzvergleich findet man dann sechs 10-er Nukleotide, die identisch sind und 5, die nicht identisch sind, da sie sich in einem Baustein unterscheiden.

Außerdem kann die Identität graduell bestimmt werden, wobei die Einheit in Prozent angegeben wird. Zur Bestimmung des Grades der Identität werden auch Teilsequenzen betrachtet, die minimal die Länge der tatsächlich genutzten Sequenz, z.B. als Primer, oder aber 20 Nukleotide umfassen.

Als Beispiel werden Polynukleotide A mit einer Länge von 100 Nukleotiden und B mit einer Länge von 200 Nukleotiden verglichen. Aus Polynukleotid B wird ein Primer abgeleitet mit einer Länge von 14 Nukleotiden. Zur Bestimmung des Grades der Identität wird Polynukleotid A mit dem Primer in seiner ganzen Länge verglichen. Wenn die Sequenz des Primers in Polynukleotid A vorkommt, wobei sie aber in einem Baustein abweicht, dann gibt es ein Fragment mit einem Identitätsgrad von  $13:14 \rightarrow 92,3 \%$ .

Im zweiten Beispiel werden die zuvor genannten Polynukleotide A und B in ihrer Gesamtheit verglichen. In diesem Fall werden alle möglichen Vergleichsfenster einer Länge von 20 Nukleotiden angelegt und für sie der Identitätsgrad bestimmt. Sind also Nukleotid Nr. 50-69 von Polynukleotid A und B mit Ausnahme von Nukleotid Nr. 55 identisch, dann ergibt sich für diese Fragmente ein Identitätsgrad von 19:20 → 95 %.

### Konservierte und variable Primer

Konservierte Primer sind Nukleotide die an konservierte DNA- oder RNA-Regionen hybridisieren. Der Begriff konserviert charakterisiert die evolutionäre Veränderlichkeit einer Nukleotidsequenz für Spezies verschiedener taxonomischer Einheiten. Er ist deshalb ein vergleichendes Maß. Je nachdem welche Sequenz zum Vergleich herangezogen werden kann ein Bereich bzw. Primer konserviert oder variabel sein. Die Charakterisierung des Primers als "konserviert" oder "variabel" erfolgt anhand unmittelbar angrenzender oder überlappender Regionen bezüglich des Hybridisierungsziels, die die gleiche Länge haben wie der Primer. Es können also Vergleichsequenzen vom gleichen Organismus oder homologe oder ähnliche Sequenzen von anderen Organismen gewählt werden. Beim Vergleich zweier Sequenzen ist eine konserviert, wenn sie mit der Vergleichssequenz zu mindestens 95% identisch ist und variabel, wenn sie zu weniger als 95 % identisch ist.

### Verschachtelte Primer

Verschachtelte Primer werden insbesondere in der Konsensus-PCR verwendet. Es handelt sich dabei um Primer, die ein Fragment eines bereits amplifizierten Polynukleotids amplifizieren. Verschachtelte Primer hybridisieren also mit einem Bereich innerhalb eines bereits vermehrten DNA- oder RNA-Zielmoleküls. Die Amplifikation mit verschachtelten Primern kann dabei beliebig häufig geschehen, so daß sukzessive kleinere Amplifikationsprodukte entstehen.

### Hybridisierung von DNA oder RNA

Zwei identische oder ähnliche Nukleotidfragmente können miteinander zu einem Doppelstrang hybridisieren. Eine solche Hybridisierung kann nicht nur stattfinden zwischen DNA-, RNA- oder PNA-Einzelsträngen, sondern es können auch Hybridmoleküle zwischen DNA und RNA, DNA und PNA, RNA und PNA usw. gebildet werden. Es gibt eine Reihe von Faktoren, die bestimmen ob zwei Polynukletide hybridisieren. Eine Hybridisierung kann stattfinden in einem Temperaturrahmen von bevorzugt bei 37-60°C. Außerdem kann eine Hybridisierung unter diskreten Hybridisierungs- und Waschschritten ablaufen. Experimentelle Parameter zur Spezifizierung der Hybridisierungsbedingungen sind in Beispiel 4) gegeben. Dabei ist eine spezifische Hybridisierung dann gegeben, wenn mit der eingesetzten Sonde nur eine Hybridisierung mit der gewünschten Zielsequenz erfolgt und nicht mit einer anderen DNA, die ebenfalls in der Probe vorliegt.

### Kombinationen in der Nutzung von Nukleotiden

Primer, Sonden, DNA-Fragmente, Unterbereiche von Polynukleotiden oder Oligonukleotiden können in vielen Kombinationen genutzt werden. Möglich sind z.B. die beliebige Kombination zweier Primer aus einer Gruppe von Primern, die beliebige Auswahl einer Sonde aus einer Gruppe von Sequenzen und die Auswahl von Primern aus der gleichen Gruppe von Sequenzen. In letzterem Fall können die Primer und Sonde(n) identisch oder verschieden sein. Primer oder Sonden können auch aus zwei oder mehreren DNA-Fragmenten zusammengesetzt sein, wobei alle möglichen Variationen der Zusammensetzung in Betracht kommen. Kombinationen sind auch möglich in der Abfolge von distinkten PCR-Schritten mit verschiedenen Primern und dem Einsatz von Sonden.

### Konsensus PCR

Eine Konsensus-PCR wird mit Konsensusprimern durchgeführt. Diese sind in der Lage die DNA von mindestens 2 taxonomischen Einheiten, im Idealfall von allen taxonomischen Einheiten, zu amplifizieren. In nachfolgenden Analyseschritten wird die Identität der amplifizierten DNA bestimmt. Zu diesem Zwecke werden entweder weitere PCR-Schritte durchgeführt, die gegebenenfalls mit variablen, verschachtelten Primern bezüglich kleinerer taxonomischer Einheiten diskriminieren. Die finale Bestimmung einer taxonomischen Einheit kann außer mit variablen Primern auch mit spezifischen Sonden durchgeführt werden.

### Nukleotide

Nukleotide sind die Bausteine der DNA oder RNA. Dabei bedeuten die Abkürzungen:

G = Guanosin, A = Adenosin, T = Thymidin, C = Cytidin, R = G oder A, Y = C oder T, K = G oder T, W = A oder T, S = C oder G, M = A oder C, B = C, G oder T, D = A, G oder T, H = A, C oder T, V = A, C oder G, N = A, C, G oder T, I = Inosin.

### Taxonomische Einheiten

Taxonomische Einheiten der Bakterien sind alle bekannten taxonomischen Unterteilungen, wie z.B. Reiche, Klassen, Abteilungen, Ordnungen, Familien, Gattungen, Arten, Stämme, Zwischeneinheiten dieser taxonomischen Einheiten, wie Unterklassen, Unterordnungen, Unterfamilien etc. oder Gruppen dieser taxonomischen Einheiten.

### Ausführliche Beschreibung der Erfindung

Die vorliegende Erfindung umfaßt im wesentlichen 5 Teilaspekte, die die Erfindung in allgemeiner Form und in speziellen Aspekten widerspiegeln:

- Strategische Auswahl von DNA-Zielregionen unter Nutzung benachbarter Gene
  - Beschreibung der Nutzung einer ribosomalen DNA-Region aus dem Ende der 23 S rDNA, dem transkribierten Spacer und Teilen der 5 S rDNA zum Nachweis aller Bakterien
  - Bereitstellung von Primern und Sonden für eine Vielzahl von Bakterien
- 
- Nachweis der Familie der Enterobakterien und deren Mitglieder
  - Anwendung einer Konsensus-PCR zum Nachweis aller Bakterien

#### Strategische Auswahl von DNA-Zielregionen unter Nutzung benachbarter Gene

Die Erfindung besteht in der Nutzung von Anteilen benachbarter Gene zum Nachweis von taxonomischen Einheiten, d.h. Reichen, Klassen, Abteilungen, Familien, Gattungen und Stämmen, sowie von Zwischenformen dieser Einheiten. Der Vorteil der Erfindung liegt darin, daß DNA-Bereiche, die zwei Gene überspannen bezüglich der Variabilität sehr heterogen zusammengesetzt sind, wie am Beispiel der ribosomalen Operons, insbesondere dem 23S/5S rDNA Abschnitt, gefunden wurde. Durch das Vorhandensein von sehr stark und sehr wenig konservierten Bereichen ist der Fachmann in die Lage versetzt, alle möglichen nahe und auch fern verwandten Organismen nachzuweisen.

---

#### Beschreibung der Nutzung einer ribosomalen DNA-Region aus dem Ende der 23 S rDNA, dem transkribierten Spacer und Teilen der 5 S rDNA zum Nachweis aller Bakterien

Insbesondere ein 23 S-5 S rDNA Bereich umfassend ca. 400-750 Nukleotide kann zum Nachweis von Bakterien genutzt werden. Letztere Region besteht aus ca. 330-430 Nukleotiden des terminalen Bereichs der 23 S rDNA, dem anschließenden

transkribierten Spacer und dem 5 S rDNA-Gen. In einzelnen Fällen kann zudem ein t-RNA-Gen in den Spacer insertiert sein und wird für den Nachweis mitgenutzt. Die beschriebene Region entspricht somit den Nukleotiden 2571-3112 der SEQ ID 1, welche die 23 S und 5 S rDNA-Gene von *Escherichia coli* darstellt. Durch einen dem Fachmann vertrauten Sequenzvergleich lassen sich die homologen und dem obigen Bereich entsprechenden Abschnitte anderer Bakterien bestimmen. Insbesondere bei Angehörigen gleicher Familien oder auch Ordnungen oder Abteilungen läßt sich der Beginn des oben skizzierten Bereichs am Terminus der 23 S rDNA-Gens und das Ende des 5 S rDNA-Gens durch einen Vergleich der ribosomalen DNA-Sequenzen zweier Arten A und B leicht bestimmen. Sollte dies für einen Vergleich der Arten A und einer weiter entfernten Art C nicht so leicht möglich sein, so kommt man zu dem gewünschten Ergebnis, indem man einen Vergleich zwischen den Sequenzen der Arten B und C durchführt, wobei B und C miteinander näher verwandt sein sollten. Durch eine Reihe von separaten Sequenzvergleichen können auf diese Weise die der obigen Region entsprechenden homogenen ribosomalen Bereiche der 23 S rDNA, des transkribierten Spacers und der 5 S rDNA aller Eubakterien bestimmt werden. Aufgrund von Variabilität einzelner Subbereiche können dabei durchaus Längenunterschiede von mehreren hundert Nukleotiden auftreten. Des weiteren erlaubt die vorliegende Erfindung die Nutzung von Unterbereichen der oben beschriebenen Region. Ein Großteil dieser Bereiche ist in Tabelle 6 beschrieben.

#### Bereitstellung von Primern und Sonden für eine Vielzahl von Bakterien

Neben der generellen Beschreibung des nutzbaren rDNA-Bereichs werden auch Sequenzen (SEQ ID 1-530) bereitgestellt, die zum Zwecke des Nachweises von Bakterien verwendet werden können. Je nach Aufgabenstellung können dabei die in SEQ ID 1-530 spezifizierten Polynukleotide komplett verwendet werden, oder Fragmente aus diesen. Die unter SEQ ID 1-530 spezifizierten Sequenzen stammen



dabei aus dem zuvor beschriebenen Bereich des 23 S-rDNA-Gens, transkribierten Spacers und 5 S rDNA-Gens.

In der technischen Ausführung kann der Nachweis von Organismen mit Hilfe der hierzu spezifizierten DNA-Bereiche und Sequenzen durch Sonden und/oder Primer erfolgen. Primer sind Nukleotide, die als Startermoleküle für die Amplifikation dienen. Sie lagern sich dabei an die Zielsequenz an, woraufhin die Region mit Hilfe einer Polymerase neu synthetisiert wird. Durch den Grad der Identität der Primer mit der Zielsequenz läßt sich deren Spezifität einstellen. Die taxonomische Spezifität wird zudem durch die Auswahl der Zielsequenz innerhalb des hierin beschriebenen ribosomalen Bereichs determiniert (s. auch Tabelle 6). Dementsprechend können Primer also auf verschiedene Weisen genutzt werden: so ist es z.B. möglich den gesamten Bereich entsprechend Abb. 2 oder homolog zu den Nukleotiden Nr. 2571-3112 der SEQ ID 1 (E. coli) mit den Primern SEQ ID 211 und 212 zu amplifizieren. Um die Amplifikation zu optimieren kann auch ein Gemisch von mehr als zwei Primern eingesetzt werden. Außerdem ist es möglich die Primer so zu wählen, daß nur die DNA bestimmter Bakterien amplifiziert wird. In diesem Fall geben sie also zweierlei Informationen: Erstens zeigen sie die Anwesenheit und zweitens die Identität der gesuchten Bakterien im Falle positiver Amplifikation. Durch sequentielle Amplifikationsschritte mit verschachtelten Primern kann der Informationsaustausch am Ende der DNA-Synthese nach den Erfordernissen gelenkt werden.

In einem distinkten Schritt kann die DNA, die idealer Weise zuvor amplifiziert worden ist, mit Sonden gebunden, ankonzentriert und nachgewiesen werden. Sonden sind also Oligonukleotide oder Polynukleotide, die an einzelsträngige DNA-Abschnitte binden können. Die Affinität der Sonden zur Zielsequenz wird durch den Grad der Identität mit dieser bestimmt. Außerdem haben die Hybridisierungsbedingungen einen signifikanten Einfluß, d.h. Salzkonzentration der Puffer, Inkubationszeit und -temperatur müssen optimiert werden. Der Fachmann ist in der Lage diese Parameter mit Hilfe gängiger Methoden schnell zu optimieren. Exemplarische Hy-

bridsierungsbedingungen sind in den Beispielen gegeben. Sonden können ganz analog wie Primer zweierlei leisten: erstens können sie die Anwesenheit von bakterieller DNA oder von Amplifikationsprodukten zeigen; zweitens können sie zur Detektion der DNA bestimmter Bakterien beitragen. In dieser Dualität ihrer Funktion gleichen sie also den Primern. Demzufolge kann es also zwischen Primern und Sonden zu einer Aufgabenteilung bei der Identifizierung von Organismen kommen. Außerdem können die Sonden ebenso wie die Primer aus frei wählbaren Bereichen des terminalen Bereichs der 23 S rDNA, des transkribierten Spacers oder der 5 S rDNA stammen oder auch den gesamten Bereich umfassen.

Ein besonderer Vorteil der vorliegenden Erfindung liegt darin, daß der ausgewählte ribosomale Bereich gemäß Abb. 2 heterogen aus sehr variablen und sehr konservierten Regionen in einem extrem breiten Spektrum zusammengesetzt ist. Da es sehr viele Kombinationen in der Nutzung von Subregionen, z.B. gemäß Tabelle 6 gibt, bietet die vorliegende Erfindung eine Nachweismöglichkeit für alle bakteriellen Spezies und taxonomischen Einheiten.

#### Nachweis der Familie der Enterobakterien und deren Mitglieder

Mit Hilfe der hierin charakterisierten DNA-Zielregion können z.B. bakterielle Familien wie die Enterobacteriaceae nachgewiesen werden (Bsp. 1). Die Enterobakterien sind eine homogene taxonomische Einheit des  $\gamma$ -Zweiges der Proteobakterien oder Purpurbakterien. Sie sind deshalb von besonderem Interesse, weil ihnen viele pathogene Bakterien angehören, wie *Escherichia coli* (EHEC etc.), *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia*. Sie eignen sich also als Markerorganismen, um den hygienischen Zustand von Lebensmitteln zu überprüfen. In der klinischen Mikrobiologie kann der Nachweis von Enterobakterien, einen ersten Schritt bei der Eingrenzung oder Identifizierung pathogener Keime darstellen. Aus der hierin enthaltenen Auflistung sind z.B. die Primer SEQ ID 2-25 in verschiedenen Kombinationen geeignet die Enterobakterien als Familie zu identifizieren. Viele der aufgelisteten Sequenzen sind au-

Berdem geeignet einzelne Mitglieder der Enterobakterien, d.h. Gattungen, Spezies und Stämmen zu indentifizieren. Weitere Sequenzen werden auch für die übrigen taxonomischen Einheiten der Proteobakterien, insbesondere den gesamten  $\gamma$ -Zweig und außerdem für die Firmicutes bereitgestellt. Mit der Beschreibung der ribosomalen Region gemäß Abb. 2 wird ein weiterer Weg aufgezeigt, wie der Fachmann leicht weitere Sequenzen gewinnen kann, um alle Eubakterien nachzuweisen.

---

#### Anwendung einer Konsensus-PCR zum Nachweis aller Bakterien

Ein besonderer Vorteil unserer Erfindung liegt darin, daß die DNA-Zielregion, wie sie in Abb. 2 beschrieben ist, sich in idealer Weise in einer Konsensus-PCR nachweisen läßt. Eine wesentliche Voraussetzung für die experimentelle Anwendbarkeit dieser Methode ist, daß die Sequenzen innerhalb einer zu amplifizierenden Zielregion zunehmend variabel werden. Diese Konfiguration ist in dem von uns charakterisierten Bereich des ribosomalen Operons für alle untersuchten Spezies erfüllt.

Das Schema der Konsensus-PCR ist in Abb. 8 umrissen. In der Regel wird zunächst ein "Masterfragment" amplifiziert. Dieses kann dem Gesamtfragment entsprechend Abb. 2 gleichen oder ein Teil davon sein. Wenn nun in einer Probe verschiedene zu identifizierende Keime vorliegen, so wird für alle dieses Fragment amplifiziert. Die einzelnen Keime werden schließlich mit spezifischen Sonden und/oder in Kombination mit weiteren PCR-Schritten identifiziert. Der Nachweis mit Sonden kann auch miniaturisiert sein und auf Chips erfolgen. Alternativ kann ein Nachweis im klassischen ELISA-Verfahren erfolgen. Die Komponenten des Bakteriennachweises können in Form eines Kits bereitgestellt werden.

Vorteilhaft zur Detektion sind insbesondere fluoreszierende Farbstoffe. Diese können an die Primer oder die Sonden gekoppelt werden. Insbesondere im ELISA oder in Southern Blot-Verfahren werden jedoch häufig auch nicht-fluoreszierende Farbstoffe verwendet. Eine weitere Möglichkeit des Nachweises besteht mit der Gene-

trak- und Lightcycler-Technologie. Im Prinzip bieten alle diese Verfahren die Option eines quantitativen Nachweises. Es ist also möglich durch Auswertung des Detektionssignals letztendlich auf die Zahl der in einer Probe vorhandenen Bakterien rückzuschließen.

Der Nachweis von Bakterien mit Hilfe der vorliegenden Erfindung kann in einem experimentellen Kontext erfolgen, der dem Fachmann durchaus bekannt ist. So ist es möglich Bakterien vor dem Nachweis zunächst in einem geeigneten Medium anzureichern. Beim Arbeiten mit Lebensmitteln können physikalische Abtrennungsschritte, wie Zentrifugation der Sedimentation, eine vorteilhafte Ausführung darstellen. Es ist auch möglich die Bakterien so anzureichern, daß nachträglich Rückschlüsse auf die Ausgangskeimzahl möglich sind. Des weiteren können Grenzwertbestimmungen bezüglich der Keimzahl durchgeführt werden. Alles in allem ist also ein quantitativer oder semiquantitativer Keimnachweis möglich.

Zur Isolierung genomischer DNA werden die (angereicherten) Bakterien aufgeschlossen. Physikalische (Glasperlen, Hitze) und chemische (NaOH) Einflüsse liegen häufig den dem Fachmann bekannten Protokollen zum Zellaufschluß zugrunde. Es ist jedoch auch möglich Zellen direkt in eine PCR zum DNA-Nachweis einzusetzen. Außerdem kann es vorteilhaft sein, die genomische DNA, insbesondere wenn sie in Lebensmittelmatrizes verteilt ist, aufzureinigen. Auch diese Verfahren sind dem Fachmann bekannt. DNA-Reinigungskits sind zudem kommerziell erhältlich.

---

**Tabelle 1.** Nachweis von Enterobakterien unter Ausgrenzung von anderen Bakterien (Beisp. 1)

Nr.	Arten	Stamm	Nachweis
1	<i>Budvicia aquatilis</i>	DSM 5025	+
2	<i>Buttiauxella agrestis</i>	DSM 4586	+
3	<i>Cedecea davisae</i>	DSM 4568	+
4	<i>Citrobacter koser</i>	DSM 4595	+
5	<i>Erwinia carotovora</i>	DSM 30168	+
6	<i>Erwinia chrysanthemi</i>	DSM 4610	+
7	<i>Ewingella americana</i>	DSM 4580	+
8	<i>Enterobacter agglomerans</i>	B-5081-i	+
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	DSM 30053	+
10	<i>Enterobacter sakazakii</i>	DSM 4485	+
11	<i>Enterobacter intermedius</i>	DSM 4581	+
12	<i>Enterobacter cloacae</i>	DSM 30054	+
13	<i>E. coli</i>	BC 7883	+
14	<i>E. coli</i>	H123	+
15	<i>E. coli</i>	BC 7884	+
16	<i>E. coli</i>	BC 7885	+
17	<i>E. hermannii</i>	B-4943a	+
18	<i>E. coli</i>	ATCC 8739	+
19	<i>Hafnia alvei</i>	DSM 30163	+
20	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 13883	+
21	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	DSM 2026	+
22	<i>Klebsiella planticola</i>	DSM 4617	+
23	<i>Klebsiella oxytoca</i>	DSM 5175	+
24	<i>Kluyvera cryocrescens</i>	DSM 4583	+
25	<i>Morganella morganii</i>	DSM 30164	+
26	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	DSM 8224	+
27	<i>Pantoea ssp.</i>	B-5200	+
28	<i>Pantoea dispersa</i>	DSM 30073	+
29	<i>Proteus rettgeri</i>	DSM 1131	+
30	<i>Proteus rettgeri</i>	ATCC 14505	+
31	<i>Providencia stuartii</i>	DSM 4539	+
32	<i>Rahnella aquatilis</i>	DSM 4594	+
33	<i>Rahnella aquatilis</i>	DSM 4594	+
34	<i>Serratia proteamaculans</i>	DSM 4487	+
35	<i>Serratia ficaria</i>	DSM 4509	+

**Tabelle 1. Nachweis von Enterobakterien unter Ausgrenzung von anderen Bakterien (Beisp. 1) - Fortsetzung -**

Nr.	Arten	Stamm	Nachweis
36	<i>Serratia plymutica</i>	DSM 49	+
37	<i>Serratia rubidea</i>	DSM 4480	+
38	<i>Serratia marcescens</i>	DSM 1636	+
39	<i>Salmonella bongori</i>	DSM 7952	+
40	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	DSM 8992	+
41	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	DSM 8992	+
42	<i>Yersinia enterocolitica</i>	DSM 4790	+
43	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	DSM 590	-
44	<i>Aeromonas hydrophila</i>	DSM 6173	-
45	<i>Aeromonas enteropelogenes</i>	DSM 6394	-
46	<i>Fransilla tularensis</i> Isolat	F16	-
47	<i>Franziseella philomiragia</i>	DSM 7535	-
48	<i>Moraxella catarrhalis</i>	DSM 9143	-
49	<i>Pasteurella pneumotropica</i>	B-2397 A 13	-
50	<i>Pseudomonas beyjerinkii</i>	DSM 7218	-
51	<i>Vibrio fischeri</i>	DSM 507	-
52	<i>Vibrio alginolyticus</i>	DSM 2171	-
53	<i>Vibrio proteolyticus</i>	DSM 30189	-
54	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	DSM 10027	-
55	<i>Vibrio harveyi</i>	DSM 6104	-
56	<i>Xanthomonas maltophilia</i>	BC 4273	-
57	<i>Achromobacter xyloso</i>	DSM 2402	-
58	<i>Alcaligenes</i> spp	DSM 2625	-
59	<i>Alcaligenes latus</i>	DSM 1122	-
60	<i>Brucella neotomae</i>	ATCC 25840	-
61	<i>Brucella ovis</i>	ATCC 23459	-
62	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	DSM 20680	-
63	<i>Flavobacterium</i> sp.	ATCC 27551	-
64	<i>Flavobacterium resinovorum</i>	DSM 7438	-
65	<i>Flavobacterium johnsonii</i>	DSM 2064	-
66	<i>Flavobacterium flavense</i>	DSM 1076	-
67	<i>Lactobacillus bifidus</i>	BC 8463	-
68	<i>Pseudomonas paucimobilis</i>	DSM 1098	-
69	<i>Pseudomonas cepacia</i>	DSM 3134	-
70	<i>Sphingobacterium multivorans</i>	DSM 6175	-

**Tabelle 2.** Nachweis von *Pantoea dispersa* unter Ausgrenzung von anderen Bakterien (Beisp. 2)

Nr.	Art	Nachweis
1	<i>Pantoea dispersa</i>	+
2	<i>Budvicia aquatica</i>	-
3	<i>Buttiauxella agrestis</i>	-
4	<i>Enterobacter agglomerans</i>	-
5	<i>Erwinia carotovora</i>	-
6	<i>Erwinia chrysanthemi</i>	-
7	<i>Escherichia coli</i>	-
8	<i>Escherichia vulneris</i>	-
	<i>Escherichia hermannii</i>	-
10	<i>Hafnia alvei</i>	-
11	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-
12	<i>Kluyvera cryocrescens</i>	-
13	<i>Morganella morganii</i>	-
14	<i>Proteus mirabilis</i>	-
15	<i>Proteus rettgeri</i>	-
16	<i>Proteus stuartii</i>	-
17	<i>Providencia stuartii</i>	-
18	<i>Rahnella aquatilis</i>	-
19	<i>Serratia ficaria</i>	-
20	<i>Serratia fonticola</i>	-
21	<i>Serratia marcescens</i>	-
22	<i>Serratia plymuthica</i>	-
23	<i>Serratia proteamaculans</i>	-
24	<i>Serratia rubidea</i>	-
25	<i>Yersinia enterocolitica</i>	-
26	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	-
27	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	-
28	<i>Aeromonas enteropelogenes</i>	-
29	<i>Aeromonas hydrophila</i>	-
30	<i>Cedecea davisae</i>	-
31	<i>Haemophilus influenzae</i>	-
32	<i>Moraxella catarrhalis</i>	-

**Tabelle 2.** Nachweis von *Pantoea dispersa* unter Ausgrenzung von anderen Bakterien  
(Beisp. 2) - Fortsetzung -

Nr.	Art	Nachweis
33	<i>Pasteurella pneumotropica</i>	-
34	<i>Stenotrophomonas multophila</i>	-
35	<i>Vibrio alginolyticus</i>	-
36	<i>Vibrio fisheri</i>	-
37	<i>Vibrio harveyi</i>	-
38	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-
39	<i>Alcaligenes</i> sp.	-
40	<i>Bacillus subtilis</i>	-
41	<i>Brucella abortus</i>	-
42	<i>Brucella ovis</i>	-
43	<i>Flavobacterium resinovorum</i>	-
44	<i>Pseudomonas paucimobilis</i>	-
45	<i>Pseudomonas cepacia</i>	-
46	<i>Ralstonia pickettii</i>	-
47	<i>Sphingobacterium multivorum</i>	-
48	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	-
49	<i>Streptococcus faecalis</i>	-



**Tabelle 3:** Nachweis einer Gruppe von Gattungen mit der Sonde GTTCCGAGATTGGTT

Nr.	Art	Nachweis
1	Rahnella aquatilis	+
2	Serratia ficaria	+
3	Serratia fonticola	+
4	Serratia marcescens	+
5	Serratia plymuthica	+
6	Serratia proteamaculans	+
7	Serratia rubidea	+
8	Yersinia enterocolitica	+
9	Yersinia pseudotuberculosis	+
10	Budvicia aquatica	-
11	Buttiauxella agrestis	-
12	Enterobacter agglomerans	-
13	Erwinia carotovora	-
14	Erwinia chrysanthemi	-
15	Escherichia coli	-
16	Escherichia vulneris	-
17	Escherichia hermannii	-
18	Hafnia alvei	-
19	Klebsiella oxytoca	-
20	Kluyvera cryocrescens	-
21	Morganella morganii	-
22	Pantoea dispersa	-
23	Proteus mirabilis	-
24	Proteus rettgeri	-
25	Proteus stuartii	-
26	Providencia stuartii	-
27	Acinetobacter calcoaceticus	-
28	Aeromonas enteropelogenes	-
29	Aeromonas hydrophila	-

**Tabelle 3: Nachweis einer Gruppe von Gattungen mit der Sonde GTTCCGAGATTGGTT**  
**- Fortsetzung -**

Nr.	Art	Nachweis
30	<i>Cedecea davisae</i>	-
31	<i>Haemophilus influenzae</i>	-
32	<i>Moraxella catarrhalis</i>	-
33	<i>Pasteurella pneumotropica</i>	-
34	<i>Stenotrophomonas multophila</i>	-
35	<i>Vibrio alginolyticus</i>	-
36	<i>Vibrio fisheri</i>	-
37	<i>Vibrio harveyi</i>	-
38	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-
39	<i>Alcaligenes</i> sp.	-
40	<i>Bacillus subtilis</i>	-
41	<i>Brucella abortus</i>	-
42	<i>Brucella ovis</i>	-
43	<i>Flavobacterium resinovorum</i>	-
44	<i>Pseudomonas paucimobilis</i>	-
45	<i>Pseudomonas cepacia</i>	-
46	<i>Ralstonia pickettii</i>	-
47	<i>Sphingobacterium multivorum</i>	-
48	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	-
49	<i>Streptococcus faecalis</i>	-

Tabelle 4: Spezifische Sonden zum Nachweis von bakterieller Gattungen und Arten

Nr.	Sonde SEQ ID	Nachweis Gattung/Art
1	96	<i>Budvicia aquatica</i>
2	97	<i>Buttiauxella agrestis</i>
3	98	<i>Enterobacter agglomerans</i>
4	99	<i>Erwinia carotovora</i>
5	100	<i>Erwinia chrysanthemi</i>
6	101	<i>Escherichia coli</i>
7	102	<i>Escherichia hermannii</i>
	103	<i>Escherichia vulneris</i>
9	104	<i>Hafnia alvei</i>
10	105	<i>Klebsiella oxytoca</i>
11	106	<i>Kluyvera cryocrescens</i>
12	107	<i>Morganella morganii</i>
13	108, 109	<i>Pantoea</i>
14	110	<i>Proteus mirabilis</i>
15	111	<i>Proteus rettgeri</i>
16	112	<i>Providencia stuartii</i>
17	113	<i>Rahnella aquatilis</i>
18	114	<i>Serratia ficaria</i>
19	115	<i>Serratia fonticola</i>
20	116	<i>Serratia marcescens</i>
	117	<i>Serratia plymuthica</i>
22	118	<i>Serratia proteamaculans</i>
23	119	<i>Serratia rubidea</i>
24	120	<i>Yersinia enterocolitica</i>
25	121	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>
26	122	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
27	123	<i>Aeromonas enteropelogenes</i>
28	124	<i>Aeromonas hydrophila</i>
29	125	<i>Cedecea davisae</i>
30	126	<i>Haemophilus influenzae</i>
31	127	<i>Moraxella catarrhalis</i>
32	128	<i>Pasteurella pneumotropica</i>
33	129	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>

**Tabelle 4:** Spezifische Sonden zum Nachweis von bakterieller Gattungen und Arten  
- Fortsetzung 1/2 -

Nr.	Sonde SEQ ID	Nachweis Gattung/Art
34	130	<i>Vibrio alginolyticus</i>
35	131	<i>Vibrio fisheri</i>
36	132	<i>Vibrio harveyi</i>
37	133	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
38	134	<i>Vibrio proteolyticus</i>
39	432	<i>Salmonella typhi</i>
40	433	<i>Buchnera aphidicola</i>
41	434	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
42	435	<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>
43	436	<i>Agrobacterium vitis</i>
44	437	<i>Adalia bipunctata</i>
45	438	<i>Amycolatopsis orientalis</i>
46	439	<i>Brucella</i>
47	440	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>
48	441	<i>Pseudomonas paucimobilis</i>
49	442	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>
50	443	<i>Rickettsia prowazekii</i>
51	444	<i>Pseudomonas cepacia</i>
52	445	<i>Ralstonia pickettii</i>
53	446	<i>Campylobacter jejuni</i>
	447	<i>Helicobacter pylori</i>
55	448	<i>Actinoplanes utahensis</i>
56	449	<i>Bacillus halodurans</i>
57	450	<i>Bacillus subtilis</i>
58	451	<i>Clostridium tyrobutyricum</i>
59	452	<i>Frankia</i>
60	453	<i>Microbispora bispora</i>
61	454	<i>Mycobacterium leprae</i>
62	455	<i>Mycobacterium smegmatis</i>
63	456	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
64	457	<i>Mycoplasma gallisepticum</i>

**Tabelle 4:** Spezifische Sonden zum Nachweis von bakterieller Gattungen und Arten  
- Fortsetzung 2/2 -

Nr.	Sonde SEQ ID	Nachweis Gattung/Art
65	458	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>
66	459	<i>Rhodococcus erythropolis</i>
67	460	<i>Rhodococcus fascians</i>
68	461	<i>Staphylococcus aureus</i>
69	462	<i>Streptococcus faecalis</i>
70	463	<i>Streptomyces ambifaciens</i>
71	464	<i>Streptomyces galbus</i>
72	465	<i>Streptomyces griseus</i>
73	466	<i>Streptomyces lividans</i>
74	467	<i>Streptomyces mashuensis</i>
75	468	<i>Flavobacterium resinovororum</i>
76	469	<i>Sphingobacterium multivorans</i>
77	470	<i>Synechococcus</i>
78	471	<i>Synechocystis</i>
79	472	<i>Borrelia burgdorferi</i>
80	473	<i>Chlamydia trachomatis</i>
81	474	<i>Azotobacter vinelandii</i>
82	475	<i>Cowdria ruminantium</i>
83	476	<i>Mycobacterium intracellulare</i>
84	477	<i>Mycobacterium lufu</i>
85	478	<i>Mycobacterium simiae</i>
86	479	<i>Mycobacterium smegmatis</i>
87	480	<i>Saccharomonospora azurea</i>
88	481	<i>Saccharomonospora caesia</i>
89	482	<i>Saccharomonospora cyanea</i>
90	483	<i>Saccharomonospora glauca</i>
91	484	<i>Saccharomonospora viridis</i>
92	485	<i>Wolbachia pipientis</i>
93	525	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
94	526	<i>Zymomonas mobilis</i>
95	527	<i>Alcaligenes</i>
96	528	<i>Borrelia burgdorferi</i>
97	529	<i>Xanthomonas campestris</i>
98	530	<i>Cowduria ruminantium</i>

Tabelle 5: Primer zum Nachweis von Bakterienarten oder Gattungen

Nr.	verwendete Species	SEQ ID	vorwärts-Primer	rückwärts-Primer (rückwärts- Primer* = komplementär)
1	<i>Budvicia aquatica</i>	96	CGAGGTGTTTTAAGGAAAGTT	CGGTCAATAGACAGAAATAT
2	<i>Buttiauxellis agrestis</i>	97	CGAAGGTGTTTTGGTTGAGAG	GGTTGATGAAACAGAAATAT
4	<i>Enterobacter agglomerans</i>	98	CGAAGATGTTTTGGCGGATTG	GTTTCTGGCAACAGAAATTT
5	<i>Erwinia carotovora</i>	99	CGAAGGTGTTTTGAGAGTGAC	TTGGGATGAAACAGAAATTT
6	<i>Erwinia chrysanthemi</i>	100	CGAAGGTGTTTTAGAGAGATT	TCGGGATGAAACAAAAATTT
7	<i>Escherichia coli</i>	101	CGAAGCTGTTTTGGCGGATGA	GTCTGATAAAACAGAAATTT
8	<i>Escherichia hermannii</i>	102	CAGAGTGGTTTTGGTGTGCGG	CAGCAGGTGAACAGAAATTT
9	<i>Escherichia vulnaris</i>	103	CGAAGATGTTTTGGCGGATT	CGTCAGACAGACAGAAATTT
10	<i>Hafnia alvei</i>	104	CGAAGGTGTTTTAAGACGCGAG	GGTACAAAATAACAGAAATAT
11	<i>Klebsiella oxytoca</i>	105	CGAAGATGTTTTGGCGATTG	GTTTCTGACAAACAGAAATTT
12	<i>Kluyvera cryocens</i>	106	CAAAGATGTTTTGGTGAAAAAG	CGGGTTAATAACAGAAATTT
13	<i>Morganella morganii</i>	107	CGAAGGTGTTTTGAGTTGAGA	TTTGGATTGAAATGAAATTT
14	<i>Pantoea dispersa</i>	108	CAGAGCGTTTTTGGTCTGAGA	GCGGINTAAAAACAAAAATTT
15	<i>Pantoea ssp.</i>	109	CGAAGATGTTTTGGCGGAAATG	GTTTCTGGCAACAGAAATTT
16	<i>Proteus mirabilis</i>	110	CGAAGTGTGTTTGTGAGAGAG	AGTGATTAAACCGAAATTT
17	<i>Proteus rettgeri</i>	111	CGAAGGTGTTTTAGAGAGATA	CGGGAACAAAAACAGAAATTT
18	<i>Providencia stuartii</i>	112	CGAAGGTGTTTTAGAGAGACG	ACGGGAACGAACCGAAATTT
19	<i>Rahnella aquatilis</i>	113	CGAAGGTGTTTTGATTGAG	TATGAATGAAACAGAAATTT
20	<i>Salmonella typhi</i>	432	CGAAGGTGTTTTGGAGGATAA	GATAAAAGAAACAGAAATTT

**Tabelle 5: Primer zum Nachweis von Bakterienarten oder Gattungen**  
 - Fortsetzung -

Nr.	verwendete Spezies	SEQ ID	vorwärts-Primer	rückwärts-Primer (rückwärts-Primer* = komplementär)
21	<i>Serratia ficaria</i>	114	CGAAGGTGTTTAGAGAGACG	CAAGAATGAAACAGAAATTT
22	<i>Serratia fonticola</i>	115	CCAAAGGTGTTTGAAGAGATT	TTGAAATGAAACAGAAATTT
23	<i>Serratia marcescens</i>	116	CGAAGGTGTTTATAGAGAGAT	TTGGAATGAAACAGAAATTT
24	<i>Serratia plymuthica</i>	117	CGAAGGTGTTTATAGAGAGATT	TTGGAATGAAACAGAAATTT
25	<i>Serratia proteumaculans</i>	118	CAAAGGTGTTTATAGAGAGATT	TTGGAATGAAACANAAATTT
26	<i>Serratia rubidea</i>	119	CGAAGGTGTTTATAGAGAGATT	TCGGGATGAAACAGAAATTT
27	<i>Yersinia enterocolyca</i>	120	CAAAGGTGTTTGTATTGAG	GTTAGTTTAGACAGAAATTT
28	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	122	CCAAAGCAGTTGTATATAAAGC	GCAACCAATAAGACCAATG
29	<i>Aeromonas enteropelogenes</i>	123	CCAAGAAAGTGTINTGGTGCT	TTCCAAGATTGAAGAATTT
30	<i>Aeromonas hydrophila</i>	124	CCAAGAAAGTGTCTAAGGCTT	TTCTCAGATTGAAGAATTT
31	<i>Buchnera aphidicola</i>	433	CCAGAGGTGTTTTTTATAAAA	ATCTTGTTTACTGAATTT
32	<i>Haemophilus influenzae</i>	126	GCTCAAGTGTTTTGGGAGCT	CGGTCAGTAAACAGAAATTT
33	<i>Moraxella catarrhalis</i>	127	ACCCAAGTGGTTTACCACCTGA	GTAATAAACAGACTCATAC
34	<i>Pasteurella pneumotropica</i>	128	ACCAAAATTGTTTATCGTAAC	AGTTGTTATAATAAAACAT
35	<i>Vibrio alginolyticus</i>	130	CCAAGGGGTTTGTATGGACTC	TTTCCAGATTAAAGAAATTT
36	<i>Vibrio fisheri</i>	131	CCAAGTGGTTTGTATCAAGCA	TTAAGTAAAAACAAACACAG
37	<i>Vibrio harveyi</i>	132	CCAAGGGGTTTGTATGGACTC	TTTCCAAATTTAAAGAAATTT
38	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	133	CCAAGGGGTTTGTATGGACTC	TTTCCGAATTTAAAGAAATTT
39	<i>Vibrio proteolyticus</i>	134	CCAAGGGGTTTGTATGGACTC	TTGTTCCAGACAAAAATTT

**Tabelle 6:** Nachweispotentiale und Spezifikation der Lokalisation von DNA-Fragmenten aus dem rDNA-Operon

Nr. in Abb. 2	DNA-Bereich	Position in SEQ ID 1	Nachweispotentiale
1.	terminaler Bereich des 23 S rDNA-Gens	2667-2720	Abteilungen, Klassen, Ordnungen, Familien
2.	terminaler Bereich des 23 S rDNA-Gens	2727-2776	Abteilungen, Klassen, Ordnungen, Familien
3.	terminaler Bereich des 23 S rDNA-Gens	2777-2800	Abteilungen, Klassen, Ordnungen, Familien
4.	terminaler Bereich des 23 S rDNA-Gens	2801-2838	Klassen, Ordnungen, Familien
5.	Ende des 23 S rDNA-Gens	2857-2896	Abteilungen, Klassen, Ordnungen, Familien
6.	Beginn des 23 S-5 S transkribierten Spacers	2897-2938	Ordnungen, Familien, Gattungen, Arten, Stämme
7.	23 S-5 S transkribierter Spacer	2939-2983	Gattungen, Arten, Stämme
8.	Ende des 23 S-5 S transkribierten Spacers	2984-2999	Familien, Gattungen, Arten, Stämme
9.	Beginn des 5 S rDNA-Gens	3000-3032	Abteilungen, Klassen, Ordnungen, Familien

**Tabelle 7:** Primer aus Beispiel 1

vorwärts-Primer	rückwärts-Primer	Annealing-temperatur (°C)	Abbildung
SEQ ID 2	SEQ ID 7-22	62	3
SEQ ID 2	SEQ ID 23-24	62	4
SEQ ID 2	SEQ ID 25	67	5
SEQ ID 3-6	SEQ ID 23-24	62	6
SEQ ID 3-6	SEQ ID 25	67	7



Tabelle 8: Konsensus-PCR zum Nachweis von Bakterien

Nr.	taxonomische Einheit	Primer A1 SEQ ID	Primer B1 SEQ ID	Primer C1 SEQ ID	Primer D1 SEQ ID	Primer E1 SEQ ID	Primer F1 SEQ ID	Primer G1 SEQ ID	Primer H1 SEQ ID	Primer B2 SEQ ID	Primer A2 SEQ ID
1	Enterobakterien	1	7-22							4	5
2	Enterobakterien	26	34	42	54	66	78	85			135
3	Acinetobacter	27	35	43	55	67	79				
4	Aeromonas	28	36	44	56	68	80	87			155
5	Haemophilus	29	37	45	57	69	81				
6	Moraxella	30	38	46	58	70	82				
7	Pasteurella	31	39	47	59						
8	Stenotrophomonas	32	40	48	60	72		90			
9	Vibrio	33	41								
10	Vibrio alginolyticus			49	61	73		91	130		160
11	Vibrio fisheri			50	62	74		92	131		161
12	Vibrio harveyi			51	63	75		93	132		162
13	Vibrio parahaemolyticus			52	64	76		94	133		163
14	Vibrio proteolyticus			53	65	77		95	134		163
15	Pasteurella pneumotropica					71	83		128		158
16	Acinetobacter calcoaceticus							86	122		154
17	Haemophilus influenzae							88	126		156
18	Moraxella catarrhalis							89	127		157
19	Budvicia aquatica				166				96		135
20	Buttiauxella agrestis			187	167				97		136

**Tabelle 8:** Konsensus-PCR zum Nachweis von Bakterien  
- Fortsetzung 1/6 -

Nr.	taxonomische Einheit	Primer A1 SEQ ID	Primer B1 SEQ ID	Primer C1 SEQ ID	Primer D1 SEQ ID	Primer E1 SEQ ID	Primer F1 SEQ ID	Primer G1 SEQ ID	Primer H1 SEQ ID	Primer B2 SEQ ID	Primer A2 SEQ ID
21	<i>Enterobacter agglomerans</i>			188	168				98		
22	<i>Erwinia carotovora</i>			189	169				99		
23	<i>Erwinia chrysanthemi</i>			190	170				100		138
24	<i>Escherichia coli</i>			187	171				101		139
25	<i>Escherichia hermannii</i>			191	172				102		140
26	<i>Escherichia vulneris</i>			192	173				103, 165		141
27	<i>Hafnia alvei</i>			193	174				104		142
28	<i>Klebsiella oxytoca</i>			187	175				105, 165		143
29	<i>Kluyvera cryocscens</i>			187	175				106		144
30	<i>Morganella morganii</i>			194	176				107		145
31	<i>Pantoea dispersa</i>			187	177				108, 165		146
32	<i>Pantoea</i>			188	178				109, 165		147
33	<i>Proteus mirabilis</i>			195	179				110		
34	<i>Proteus rettgeri</i>			196	180				111		148
35	<i>Providencia stuartii</i>			197	181				112		149
36	<i>Rahnella aquatilis</i>			198	182				113, 164		149
37	<i>Serratia ficaria</i>								114, 164		150

**Tabelle 8:** Konsensus-PCR zum Nachweis von Bakterien  
- Fortsetzung 2/6 -

Nr.	taxonomische Einheit	Primer A1 SEQ ID	Primer B1 SEQ ID	Primer C1 SEQ ID	Primer D1 SEQ ID	Primer E1 SEQ ID	Primer F1 SEQ ID	Primer G1 SEQ ID	Primer H1 SEQ ID	Primer B2 SEQ ID	Primer A2 SEQ ID
38	<i>Serratia fonticola</i>								115, 164		
39	<i>Serratia marcescens</i>								116, 164		
40	<i>Serratia plymuthica</i>								117, 164		
41	<i>Serratia proteamaculans</i>								118, 164		
42	<i>Serratia rubidea</i>								119, 164		
43	<i>Yersinia enterocolitica</i>			199	184				120, 164		152
44	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>			200	185				121, 164		153
45	<i>Aeromonas enteropelogenes</i>								123		
46	<i>Aeromonas hydrophila</i>								124		
47	<i>Cedecea davisae</i>			201	186				125		
48	<i>Stenotrophomonas multophila</i>								129		159
49	<i>Enterobacter agglomerans</i>								137, 165		
50	<i>Serratia</i>				183						151
51	<i>Citrobacter</i>								202, 203		
52	<i>Salmonella</i>							204-210			
53	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	213	252	289	326	361	403		434		488

**Tabelle 8:** Konsensus-PCR zum Nachweis von Bakterien  
- Fortsetzung 3/6 -

Nr.	taxonomische Einheit	Primer A1 SEQ ID	Primer B1 SEQ ID	Primer C1 SEQ ID	Primer D1 SEQ ID	Primer E1 SEQ ID	Primer F1 SEQ ID	Primer G1 SEQ ID	Primer SEQ ID	Primer B2 SEQ ID	Primer A2 SEQ ID
54	<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	214	253	290	327	362	404		435		489
55	<i>Agrobacterium vitis</i>	215	254	291	328	363			436		490
56	<i>Adalia bipunctata</i>	216	255	292	329	364			437		491
57	<i>Amycolatopsis orientalis</i>	217	256	293	330				438		
58	<i>Brucella ovis</i>	218	257	294	331	365			439		492
59	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	219	258	295	331	366			440		493
60	<i>Pseudomonas paucimobilis</i>	220	259	296	332	367			441		494
61	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	221	260	297	333	368			442		495
62	<i>Rickettsia prowazekii</i>	222	261	298	333	369			443		496
63	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	223	262	299	334	370	405		525		499
64	<i>Zymomonas mobilis</i>	224	263	300	335	371			526		500
65	<i>Alcaligenes</i>	225	264	301	336	372	406		527		501
66	<i>Pseudomonas cepacia</i>	226	265	302	337		407		444		502
67	<i>Ralstonia pickettii</i>	227	266	303	338	373	408		445		503
68	<i>Campylobacter jejuni</i>	228	267	304	339	374	409		446		
69	<i>Helicobacter pylori</i>	229	268	305	340	375	410		447		504
70	<i>Actinoplanes utahensis</i>	230	269	306	341		411		448		

Tabelle 8: Konsensus-PCR zum Nachweis von Bakterien  
- Fortsetzung 4/6

Nr.	taxonomische Einheit	Primer A1 SEQ ID	Primer B1 SEQ ID	Primer C1 SEQ ID	Primer D1 SEQ ID	Primer E1 SEQ ID	Primer F1 SEQ ID	Primer G1 SEQ ID	Primer H1 SEQ ID	Primer B2 SEQ ID	Primer A2 SEQ ID
71	<i>Bacillus halodurans</i>	231	270	307	342	376	412		449		505
72	<i>Bacillus subtilis</i>	232			343	377	413		450		506
73	<i>Clostridium tyrobutyricum</i>	233	271	308	344	378	414		451		507
74	<i>Frankia</i>	234	272	309	345	379	415		452		508
75	<i>Microbispora bispore</i>	235	273	310	346	380	416		453		509
76	<i>Mycobacterium leprae</i>	236	274	311	347	381	417		454		510
77	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	237	275	312	348	382	418		455		511
78	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	238	276	313	349	383	419		456		512
79	<i>Mycobacterium gallisepticum</i>	239	277	314		384	420		457		
80	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>	240	278	315	350	385	421		458		
81	<i>Rhodococcus erythropolis</i>	241	279	316	351	386	422		459		513
82	<i>Rhodococcus fascians</i>	242				387	423		460		514
83	<i>Staphylococcus aureus</i>	243	280	317	352	388	424		461		515
84	<i>Streptococcus faecalis</i>	244	281	318	353	389	425		462		516
85	<i>Streptomyces ambifaciens</i>	245	282	319	354	390	426		463		517
86	<i>Flavobacterium resinovorum</i>	246	283	320	355	395	428		468		519
87	<i>Sphingobacterium multivorans</i>	247	284	321	356	396			469		520

[illegible]

- Fortsetzung 6/6 -

[illegible]

## SEQUENZPROTOKOLL

&lt;110&gt; BioteCon Diagnostics

&lt;120&gt; Nukleinsäuremoleküle zum Nachweis von Bakterien und phylogenetischen Einheiten von Bakterien

&lt;130&gt; P30882

&lt;140&gt; 1

&lt;141&gt; 1999-08-15

&lt;160&gt; 530

&lt;170&gt; PatentIn Ver. 2.1

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 3118

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Escherichia coli

&lt;400&gt; 1

```

ggttaagcga ctaagcgtac acggtggatg ccctggcagt cagaggcgat gaaggacgtg 60
ctaactctgcg ataagcgtcg gtaaggtgat atgaaccgtt ataaccggcg atttcogaat 120
ggggaaaccc agtgtgtttc gacacactat cattaactga atccataggt taatgaggcg 180
aaccggggga actgaaacat ctaagtaccc cgaggaaaag aaatcaaccg agattccccc 240
agtagcggcg agcgaacggg gagcagccca gagcctgaat cagtgtgtgt gttagtggaa 300
gcgtctggaa aggcgtgcga tacagggtga cagccccgta cacaaaaatg cacatgctgt 360
gagctcgtat agtagggcgg gacacgtggt atcctgtctg aatatggggg gaccatcctc 420
caaggctaaa tactcctgac tgaccgatag tgaaccagta ccgtgaggga aaggcgaaaa 480
gaaccccggc gaggggagtg aaaaagaacc tgaaccgtg tacgtacaag cagtgggagc 540
acgcttaggc gtgtgactgc gtaccttttg tataatgggt cagcgactta tattctgtag 600
caaggttaac cgaatagggg agccgaaggg aaaccgagtc ttaactgggc gttaagttgc 660
agggtataga cccgaaaccc ggtgatctag ccatgggcag gttgaagggt gggtaacact 720
aactggagga ccgaaccgac taatgttgaa aaattagcgg atgacttgtg gctgggggtg 780
aaaggccaat caaacgggga gatagctggt tctccccgaa agctatttag gtagcgctc 840
gtgaattcac ctccgggggt agagcactgt ttcggcaagg gggtcatccc gacttaccaa 900
cccgatgcaa atgcggaata ccggagaatg ttatcacggg agacacacgg cgggtgctaa 960
cgtccgtcgt gaagagggaa acaaccaga ccgccagta aggtcccaa gtcattggtta 1020
agtgggaaac gatgtgggaa ggcccagaca gccaggatgt tggcttagaa gcagccatca 1080
tttaaagaaa gcgtaatagc tcaactggtc agtcggcctg cgcggaagat gtaacggggc 1140
taaaccatgc accgaagctg cggcagcgac actatgtgtt gttgggtagg ggagcgttct 1200
gtaagcctgt gaaggtgtgc tgtgaggcat gctggaggta tcagaagtgc gaatgctgac 1260
ataagtaacg ataaagcggg tgaaaagccc gctcgccgga agaccaaggg ttctgttcca 1320
acgttaatcg gggcagggtg agtcgacccc taaggcgagg ccgaaaggcg tagtcgatgg 1380
gaaacagggt aatattcctg tacttggtgt tactgcgaag gggggacgga gaaggctatg 1440
ttggccgggc gacggttgtc ccggtttaag cgtgtaggct ggttttccag gcaaaccg 1500
aaaatcaagg ctgaggcgtg atgacgaggc actacggtgc tgaagcaaca aatgccctgc 1560
ttccaggaaa agcctctaag catcaggtaa catcaaactc taccacaaac cgacacaggt 1620
ggtcaggtag agaataccaa ggcgcttgag agaactcggg tgaaggaaact aggcaaaatg 1680
gtgcgcgtaac ttcgggagaa ggcagctga tatgtagggt aagcgacttg ctctgtggagc 1740
tgaaatcagt cgaagatacc agctggctgc aactgtttat taaaaacaca gcactgtgca 1800
aacacgaaag tggacgtata cgggtgtgac cctgcccggt gccggaagggt taattgatgg 1860
ggttagccgc aaggcgaagc tcttgatcga agccccgta aacggcggcc gtaactataa 1920
cggtcctaag gtagcgaaat tccttgctcg gtaagttccg acctgcacga atggcgtaat 1980
gatggccagg ctgtctccac ccgagactca gtgaaattga actcgctgtg aagatgcagt 2040
gtacccgcgg caagacggaa agaccccgtg aacctttact atagcttgac actgaacatt 2100
gagccttgat gtgtaggata ggtgggaggc tttgaagtgt ggacgccagt ctgcattggag 2160
ccgaccttga aataaccacc tttaattgtt gatgttctaa cgttgacccg taatccgggt 2220
tgccgacagt gtctggtggg tagtttgact ggggcggtct cctcctaaag agtaacggag 2280
gagcacgaag gttggctaata cctggtcggg catcaggagg ttagtgcaat ggcataagcc 2340
agcttgactg cgagcgtgac ggcgcgagca ggtgcgaaag caggtcatag tgatccggtg 2400
gttctgaatg gaagggccat cgctcaacgg ataaaaggta ctccggggat aacaggctga 2460

```



```

taccgccc aa gagttcatat cgacggcggt gtttggcacc tcgatgtcgg ctcacacacat 2520
cctggggctg aagtaggtcc caagggatat gctgttcgcc atttaaagt gtacgcgagc 2580
tgggtttaga acgtcgtgag acagttcggt ccctatctgc cgtgggcgct ggagaactga 2640
ggggggctgc tcctagtagc agaggaccgg agtggacgca tcactggtgt tcgggtgtgc 2700
atgccaatgg cactgcccgg tagctaatg cggaagagat aagtgtgaa agcatctaag 2760
cacgaaactt gcccggagat gagttctccc tgactccttg agagtcctga aggaacgttg 2820
aagacgacga cgttgatagg cgggtgtgt aagcgcagcg atgcgttgag ctaaccggta 2880
ctaataaacc gtgaggctta accttaaac gccgaagggt ttttggcgga ttgagagaag 2940
attttcagcc tgatacagat taaatcagaa cgcagaagcg gtctgataaa acagaatttg 3000
cctggcggca gtagcgcggt ggtccacct gaccccatgc cgaactcaga agtgaaacgc 3060
cgtagcgccg atggtagtgt ggggtctcct catgcgagag tagggaactg ccaggcat 3118

```

&lt;210&gt; 2

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet  
von Gattungen der Enterobakterien

&lt;400&gt; 2

ttcgggttgt catgccaatg

20

&lt;210&gt; 3

&lt;211&gt; 26

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet  
von Gattungen der Enterobakterien

&lt;400&gt; 3

ctgaaagcat ctaagcgga aacttg

26

&lt;210&gt; 4

&lt;211&gt; 26

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet  
von Gattungen der Enterobakterien

&lt;400&gt; 4

ctgaaagcat ctaagcgga aacttg

26

&lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 26

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet  
von Gattungen der Enterobakterien

&lt;400&gt; 5

ctgaaagcat ctaagcacga aacttg

26

<210> 6  
 <211> 26  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet  
 von Gattungen der Enterobakterien

<400> 6  
 ctgaaagcat ctaagcagga aacttg 26

<210> 7  
 <211> 25  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet  
 von Gattungen der Enterobakterien

<400> 7  
 gggaggactc atctcgaggc aagtt 25

<210> 8  
 <211> 25  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet  
 von Gattungen der Enterobakterien

<400> 8  
 gggaggactc atctcggggc aagtt 25

<210> 9  
 <211> 25  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet  
 von Gattungen der Enterobakterien

<400> 9  
 gggaggactc atctcaaggc aagtt 25

<210> 10  
 <211> 25  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet  
 von Gattungen der Enterobakterien

<400> 10  
gggaggactc atctcagggc aagtt

25

<210> 11  
<211> 25  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet  
von Gattungen der Enterobakterien

<400> 11  
gggaggactc atcttgaggc aagtt

25

<210> 12  
<211> 25  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet  
von Gattungen der Enterobakterien

<400> 12  
gggaggactc atcttggggc aagtt

25

<210> 13  
<211> 25  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet  
von Gattungen der Enterobakterien

<400> 13  
gggaggactc atcttaaggc aagtt

25

<210> 14  
<211> 25  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet  
von Gattungen der Enterobakterien

<400> 14  
gggaggactc atcttagggc aagtt

25

<210> 15  
<211> 25  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet

## von Gattungen der Enterobakterien

<400> 15  
gggagaactc atctcgaggc aagtt 25

<210> 16  
<211> 25  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet  
von Gattungen der Enterobakterien

---

<400> 16  
gggagaactc atctcggggc aagtt 25

<210> 17  
<211> 25  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet  
von Gattungen der Enterobakterien

<400> 17  
gggagaactc atctcaaggc aagtt 25

<210> 18  
<211> 25  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet  
von Gattungen der Enterobakterien

<400> 18  
gggagaactc atctcagggc aagtt 25

<210> 19  
<211> 25  
<212> DNA  
~~<213> Künstliche Sequenz~~

---

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet  
von Gattungen der Enterobakterien

<400> 19  
gggagaactc atcttgaggc aagtt 25

<210> 20  
<211> 25  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet  
 von Gattungen der Enterobakterien

<400> 20  
 gggagaactc atcttggggc aagtt 25

<210> 21  
 <211> 25  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet  
 von Gattungen der Enterobakterien

<400> 21  
 gggagaactc atcttaaggc aagtt 25

<210> 22  
 <211> 25  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet  
 von Gattungen der Enterobakterien

<400> 22  
 gggagaactc atcttagggc aagtt 25

<210> 23  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet  
 von Gattungen der Enterobakterien

<400> 23  
 ccgccaggca aattcggt 18

<210> 24  
 <211> 17  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet  
 von Gattungen der Enterobakterien

<400> 24  
 tcaggtggga ccaccgc 17

<210> 25  
 <211> 18  
 <212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von Gattungen der Enterobakterien

<400> 25

ccgccaggca aattctgt

18

<210> 26

<211> 54

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von Arten der Gattung Enterobakterien

<400> 26

ccggagtgga cgcaccactg gtgttcgggt tgtcatgcca atggcattgc ccgg

54

<210> 27

<211> 54

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von von Arten der Gattung Acinetobacter

<400> 27

ccagagtgga cgaacctctg gtgtaccggt tgtgacgcca gtcgcatcgc cggg

54

<210> 28

<211> 54

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von von Arten der Gattung Aeromonas

<400> 28

ccggagtgaa cgaacctctg gtgttcgggt tgtcacgcca gtggcactgc ccgg

54

<210> 29

<211> 54

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von von Arten der Gattung Haemophilus

<400> 29

ccggagtgga cgcactcactg gtgttcgggt tgtgtcgcca gacgcattgc cggg

54

<210> 30

<211> 54  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:abgeleitet  
 von von Arten der Gattung Moraxella

<400> 30  
 ccggagtgga cgcatcactg gtgttccggt tgtgtcgcca gacgcattgc cggg 54

<210> 31  
 <211> 54  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:abgeleitet  
 von von Arten der Gattung Pasteurella

<400> 31  
 ccgggatgga cacaccgctg gtgtaccagt tgttctgcca agagcatcgc tggg 54

<210> 32  
 <211> 54  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:  
 abgeleitetet von Arten der  
 Gattung Stenotrophomonas

<400> 32  
 ccggagtgga cgaacctctg gtgtaccggt tgtcacgcca gtggcattgc cggg 54

<210> 33  
 <211> 54  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:  
 abgeleitetet von Arten der Gattungt Vibrio

---

<400> 33  
 ccggagtgga cgaacctctg gtgttccggt tgtgtcgcca gacgcattgc ccgg 54

<210> 34  
 <211> 41  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet  
 von Gattungen der Enterobakterien

<400> 34  
 gagataaccg ctgaaagcat ctaagcggga aacttgcctc g 41

<210> 35  
 <211> 41  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von von Arten der Gattung Acinetobacter

<400> 35  
 gggataaccg ctgaaagcat ctaagcggga agcctacctc a 41

<210> 36  
 <211> 41  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:abgeleitet  
 von von Arten der Gattung Aeromonas

<400> 36  
 tcgataaccg ctgaaagcat ctaagcggga agcgagccct g 41

<210> 37  
 <211> 41  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:abgeleitet  
 von von Arten der Gattung Haemophilus

<400> 37  
 gagataagtg ctgaaagcat ctaagcacga aacttgccaa g 41

<210> 38  
 <211> 42  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:abgeleitet  
 von von Arten der Gattung Moraxella

<400> 38  
 gggataaccg ctgaaagcat ctaagcggga agccacacct aa 42

<210> 39  
 <211> 42  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:abgeleitet  
 von von Arten der Gattung Pasteurella



<400> 39  
gggataagtg ctgaaagcat ctaagcacga agccccctc aa 42

<210> 40  
<211> 42  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:  
abgeleitetet von Arten der Gattung  
Stenotrophomonas

---

<400> 40  
gagataaccg ctgaaagcat ctaagcggga aacttgcctt ga 42

<210> 41  
<211> 42  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:  
abgeleitetet von Arten der Gattung Vibrio

<400> 41  
tcgataaccg ctgaaagcat ctaagcggga agcgagcctt ga 42

<210> 42  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet  
von Gattungen der Enterobakterien

<400> 42  
agatgagtct tccctgggcc tttta 24

<210> 43  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

---

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von von Arten der Gattung Acinetobacter

<400> 43  
agataagatt tccctaggac tttta 24

<210> 44  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:abgeleitet  
von von Arten der Gattung Aeromonas

<400> 44  
agatgagtca tccctgaccc cttg 24

<210> 45  
<211> 21  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:abgeleitet  
von von Arten der Gattung Haemophilus

---

<400> 45  
agatgagtca tccctgactt t 21

<210> 46  
<211> 13  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:abgeleitet  
von von Arten der Gattung Moraxella

<400> 46  
agataagatt tcc 13

<210> 47  
<211> 21  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:abgeleitet  
von von Arten der Gattung Pasteurella

<400> 47  
agatgagatt tcccattacg c 21

<210> 48  
<211> 23  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

---

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:  
abgeleitetet von Arten der Gattung  
Stenotrophomonas

<400> 48  
agatgagatt tcccggagcc ttg 23

<210> 49  
<211> 24  
<212> DNA

<213> *Vibrio alginolyticus*

<400> 49

agatgagttc tccctgatac ttta

24

<210> 50

<211> 13

<212> DNA

<213> *Vibrio fisheri*

<400> 50

agattagatt tcc

13

<210> 51

<211> 24

<212> DNA

<213> *Vibrio harbeyi*

<400> 51

agatgagtct tccctgggcc ttta

24

<210> 52

<211> 24

<212> DNA

<213> *Vibrio parahaemolyticus*

<400> 52

agatgagtct tccctgatac ttta

24

<210> 53

<211> 24

<212> DNA

<213> *Vibrio proteolyticus*

<400> 53

agatgagtct tccctggcac ttta

24

<210> 54

<211> 32

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von Gattungen der Enterobakterien

<400> 54

agggtcctga agggacgttg aagactacga cg

32

<210> 55

<211> 32

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von von Arten der Gattung *Acinetobacter*

<400> 55  
tgtcctctaa agagccgttc gagactagga cg 32

<210> 56  
<211> 32  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:abgeleitet  
von von Arten der Gattung Aeromonas

<400> 56  
tgtcctctaa agagccgttc gagactagga cg 32

<210> 57  
<211> 31  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:abgeleitet  
von von Arten der Gattung Haemophilus

<400> 57  
aagtcagtaa gggttgttgt agactacgac g 31

<210> 58  
<211> 26  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:abgeleitet  
von von Arten der Gattung Moraxella

<400> 58  
ctaaagagcc gttgtagacg acgacg 26

<210> 59  
<211> 31  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:abgeleitet  
von von Arten der Gattung Pasteurella

<400> 59  
aagtaagtaa gatccctcaa agacgatgag g 31

<210> 60  
<211> 32  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:  
abgeleitetet von Arten der Gattung  
Stenotrophomonas

<400> 60  
agctccttga agggtcgttc gagaccagga cg 32

<210> 61  
<211> 32  
<212> DNA  
<213> Vibrio alginolyticus

<400> 61  
agtatcctaa agggttgtcg tagmtacgac gt 32

---

<210> 62  
<211> 27  
<212> DNA  
<213> Vibrio fisheri

<400> 62  
ctaaagagcc gttcaagact aggacgt 27

<210> 63  
<211> 33  
<212> DNA  
<213> Vibrio harbeyi

<400> 63  
agtatcctaa agggttgttc gagactagaa cgt 33

<210> 64  
<211> 33  
<212> DNA  
<213> Vibrio parahaemolyticus

<400> 64  
agtatcctaa agggttgttc gagactagaa cgt 33

<210> 65  
<211> 33  
<212> DNA  
<213> Vibrio proteolyticus

---

<400> 65  
agtgtcctga agggttgttc gagactagaa cgt 33

<210> 66  
<211> 40  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitetet  
von Gattungen der Enterobakterien

<400> 66

agcgatgcgt tgagctaacc agtactaatg acccgtgagg

40

<210> 67

<211> 40

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von von Arten der Gattung Acinetobacter

<400> 67

agtgatatgt gaagctgacc aataactaatt gctcgtgagg

40

<210> 68

<211> 40

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von von Arten der Gattung Aeromonas

<400> 68

ggcgacgtgt tgagctaacc cataactaatt acccgtgagg

40

<210> 69

<211> 40

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von von Arten der Gattung Haemophilus

<400> 69

tgtgagtcac tgagctaacc aataactaatt gcccgagagg

40

<210> 70

<211> 40

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

~~<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet~~  
~~von von Arten der Gattung Moraxella~~

<400> 70

agtgatacat gtagctaacc aataactaatt gctcgtttgg

40

<210> 71

<211> 47

<212> DNA

<213> Pasteurella pneumotropica

<400> 71

tggcgacacg tgcagctgac gaataactaat cgatcgagga cttaacc

47

<210> 72  
 <211> 40  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:  
 abgeleitetet von Arten der Gattung  
 Stenotrophomonas

<400> 72  
 agtaatgcat taagctaacc agtactaatt gcccgtagg 40

<210> 73  
 <211> 40  
 <212> DNA  
 <213> *Vibrio alginolyticus*

<400> 73  
 tgtgaggcgt tgagctaacc tgtactaatt gcccgtagg 40

<210> 74  
 <211> 40  
 <212> DNA  
 <213> *Vibrio fisheri*

<400> 74  
 agtgatgcgt gtagctaacc tgtactaatt gctcgtttg 40

<210> 75  
 <211> 40  
 <212> DNA  
 <213> *Vibrio harveyi*

<400> 75  
 tgtgaggcgt tgagctaacc tgtactaatt gcccgtagg 40

<210> 76  
 <211> 40  
 <212> DNA  
 <213> *Vibrio paramaemolyticus*

<400> 76  
~~tgtgaggeat tgagetaact gatactaatt gcccgtagg~~ 40

<210> 77  
 <211> 40  
 <212> DNA  
 <213> *Vibrio proteolyticus*

<400> 77  
 tgtgaggcgt tgagctaacc tgtactaatt gcccgtagg 40

<210> 78  
 <211> 30  
 <212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von Gattungen der Enterobakterien

<400> 78

accggtgagg cttaacctta caacaccgaa

30

<210> 79

<211> 30

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von von Arten der Gattung Acinetobacter

<400> 79

gctcgtgagg cttgactata caacacccaa

30

<210> 80

<211> 30

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von von Arten der Gattung Aeromonas

<400> 80

accggtgagg cttaaccata caacacccaa

30

<210> 81

<211> 30

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von von Arten der Gattung Haemophilus

<400> 81

gcccgagagg cttaactata caacgctcaa

30

<210> 82

<211> 30

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von von Arten der Gattung Moraxella

<400> 82

gctcggttgg cttgaccata caacacccaa

30

<210> 83



<211> 33  
 <212> DNA  
 <213> Pasteurella pneumotropica

<400> 83  
 gctgacgaat actaatcgat cgaggactta acc 33

<210> 84  
 <211> 30  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung Stenotrophomonas

<400> 84  
 gcccgtagcg cttgtcccta taaccttggt 30

<210> 85  
 <211> 27  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Gattungen der Enterobakterien

<400> 85  
 caacaccgaa ggtgttttgg aggaatc 27

<210> 86  
 <211> 27  
 <212> DNA  
 <213> Acinetobacter calcoaceticus

<400> 86  
 caacacccaa gcagttgtat ataaagc 27

<210> 87  
 <211> 27  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von von Arten der Gattung Aeromonas

<400> 87  
 caacacccaa gaagtgttct aaggctt 27

<210> 88  
 <211> 27  
 <212> DNA  
 <213> Haemophilus influenzae

<400> 88  
 caacgctcaa gtgtttttgg gagctaa 27

<210> 89  
<211> 27  
<212> DNA  
<213> *Moraxella catarrhalis*

<400> 89  
caacacccaa gtggtttacc actgact 27

<210> 90  
<211> 27  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

---

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:  
abgeleitet von Arten der Gattung  
*Stenotrophomonas*

<400> 90  
taaccttggt agtccaaggt cgagtac 27

<210> 91  
<211> 27  
<212> DNA  
<213> *Vibrio alginolyticus*

<400> 91  
caacacccaa ggggttttga tggactc 27

<210> 92  
<211> 27  
<212> DNA  
<213> *Vibrio fisheri*

<400> 92  
caacacccaa gtggttttga tcaagca 27

<210> 93  
<211> 27  
<212> DNA  
<213> *Vibrio harveyi*

---

<400> 93  
caacacccaa ggggttttga tggactc 27

<210> 94  
<211> 27  
<212> DNA  
<213> *Vibrio paramaemolyticus*

<400> 94  
caacacccaa ggggttttga tggactc 27

<210> 95  
<211> 36

<212> DNA  
 <213> *Vibrio proteolyticus*

<400> 95  
 caacacccaa ggggttttga tggactcaat gaaaga 36

<210> 96  
 <211> 118  
 <212> DNA  
 <213> *Budvicia aquatica*

<400> 96  
 caacatccga ggtgttttaa ggaaagtga agagacgaaa gaataagtag aattccagct 60  
 tgaaccgaga ttgagttgat ggttgtgtga atgacacgac ggtcaataga cagaatat 118

---

<210> 97  
 <211> 111  
 <212> DNA  
 <213> *Buttiauxella agrestis*

<400> 97  
 caacaccgaa ggtgttttgg ttgagagact aagatattga attttcagct tgaaccgaga 60  
 ttttaagtcg atgggttgtg gaacagcatg acggttgatg aaacagaata t 111

<210> 98  
 <211> 193  
 <212> DNA  
 <213> *Enterobacter agglomerans*

<400> 98  
 caacgccgaa gatgttttgg cggattgaga agattttcag cattgattac agattttcgg 60  
 gaacgaaaga ttttacgctg aggcaaggcg gcaaatgaag taaaggaagg agcatacatg 120  
 agtatgtgac tgactttgcg aatgcagcca acgcagccac agtgaaaaag attcgtttct 180  
 ggcaacagaa ttt 193

<210> 99  
 <211> 123  
 <212> DNA  
 <213> *Erwinia carotovora*

<400> 99  
 caacaccgaa ggtgttttga gaggactca aagagatggt gataatcagc ttgttttagg 60  
 attggttctg atggttatgc gagagcgaaa gcgaagcatg acggttgga tgaacagaa 120  
 ttt 123

---

<210> 100  
 <211> 101  
 <212> DNA  
 <213> *Erwinia chrysanthemi*

<400> 100  
 caacaccgaa ggtgttttag agagattggt ttgaattttc agtgaagttc cgagattggt 60  
 tctgatggct acggagtagc ggtcgggatg aaacaaaatt t 101

<210> 101  
 <211> 92  
 <212> DNA

<213> *Escherichia coli*

<400> 101

caacgccgaa gctgttttgg cggatgagag aagattttca gcctgatata gattaaatca 60  
gaacgcagaa gcggtctgat aaaacagaat tt 92

<210> 102

<211> 104

<212> DNA

<213> *Escherichia hermannii*

<400> 102

caacgccaga gtggttttgg tgttgccgtg tgagagacga ttttcagctt gaccggatag 60  
acatctgtgg cggcgcgcga gcacgcagca ggtgaacaga attt 104

<210> 103

<211> 92

<212> DNA

<213> *Escherichia vulneris*

<400> 103

caacgccgaa gatgttttgg cggatttgaa agacgatttt cagctgatac agattaagtc 60  
tgccgcctga cggcgtcaga cagacagaat tt 92

<210> 104

<211> 119

<212> DNA

<213> *Hafnia alvei*

<400> 104

caacaccgaa ggtgttttaa gacgcagaga cgcgaaaaca caaagagtaa gcttggtgaa 60  
cagattgggt tgtatggcta gctgtagaaa tacagaaagc ggtacaaata acagaatat 119

<210> 105

<211> 195

<212> DNA

<213> *Klebsiella oxytoca*

<400> 105

cgccgaagat gttttggcga tttgagaaga caacaatttc agcattgatt acagattttc 60  
gggaacgaaa gattttacgc tgaggcaagg cggcaaatga aggaaaggaa ggagcatact 120  
gaagtatgtg actgacttta cgaatgcagc caacgcagca tcggtgtaaa agattcgttt 180  
ctgacaacag aattt 195

<210> 106

<211> 90

<212> DNA

<213> *Kluyvera cryoescens*

<400> 106

cgccaaagat gttttggtga aaagagacat caataatcag cttgatacag ataaattaac 60  
tgcccgaaag gcgggttaat aacagaattt 90

<210> 107

<211> 105

<212> DNA

<213> *Morganella morganii*

<400> 107  
 caccgaaggt gttttgagtt gagagacgat taaagagatt ttccagcaca gtgaagaggc 60  
 agaagtcatt cactgtgaaa gcttattttg gattgaaatg aattt 105

<210> 108  
 <211> 192  
 <212> DNA  
 <213> *Pantoea dispersa*

<400> 108  
 cgccagaggc gttttggtct gagagaccna aagaattttc agcattgttc accggattac 60  
 ntccagtga ttttgtgctg tgacaaggcg gcacgcgaga cgacgggaag gagcatacac 120  
 gagtatgtga ctgagcggcg cgagcggggc aacgcagtca gagcgcaaaa gacgcgtnt 180  
 aaaacaaaat tt 192

<210> 109  
 <211> 190  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung *Pantoea*

<400> 109  
 cgccgaagat gttttggcgg aatgagaaga ttttcagcat tgattacaga ttttcgggaa 60  
 cgaaagattt tacgctgagg caaggcggca aatgaagtaa aggaaggagc atacatgagt 120  
 atgtgactga ctttkcggat gcagccaacg cagccacagt gaaaaagatt cgtttctggc 180  
 aacagaattt 190

<210> 110  
 <211> 111  
 <212> DNA  
 <213> *Proteus mirabilis*

<400> 110  
 caacaccgaa agtggtttgt cagagagacg aaacgatgaa gtcagcttgt tcaanattga 60  
 attactggcg acttaccgaa aggaagaag cgagtgatta aaaccgaatt t 111

<210> 111  
 <211> 139  
 <212> DNA  
 <213> *Proteus rettgeri*

<400> 111  
 caacaccgaa ggtgttttag agagatagag ttgttttcaa gaaagagtga gaagccaaaa 60  
 ggtgaaggac acgcagcttg ttgagattg aggttctggg ttagtgaaga aaaaactaaa 120  
 cggaacaaa acagaattt 139

<210> 112  
 <211> 137  
 <212> DNA  
 <213> *Providencia stuartii*

<400> 112  
 caacaccgaa ggtgttttag agagacgaag agacgaattg ttgaagcgca cgagatagag 60  
 tgggtgcgaaa aaatcagctt gttcaagatt gcagttctgg tttgcggtgt agacgcgaac 120

gggaacgaac cgaattt

137

<210> 113  
 <211> 135  
 <212> DNA  
 <213> *Rahnella aquatilis*

<400> 113  
 caacaccgaa ggtgtttttg atttgagaga cagactcgag agagtagatt ttcagcgaat 60  
 tgttccggtg ttggttcgta tggcggcgtg tgatgagaaa ttatgacacg acgcggtatg 120  
 aatgaaacag aattt 135

<210> 114  
 <211> 100  
 <212> DNA  
 <213> *Serratia ficaria*

<400> 114  
 caacaccgaa ggtgtttttg agagacgaat aattttcagc gaagttctta gattggttct 60  
 ggtggttacg cgagtaacgg ccaagaatga aacagaattt 100

<210> 115  
 <211> 106  
 <212> DNA  
 <213> *Serratia fonticola*

<400> 115  
 caacacccaa ggtgttttga agagattgaa gtagattttc agcgaagtcc cgagattggt 60  
 ttcaatggcg acacgagagt gaagcgggtg aaatgaaaca gaattt 106

<210> 116  
 <211> 97  
 <212> DNA  
 <213> *Serratia marcescens*

<400> 116  
 caacaccgaa ggtgttttta gagagatttt cagcgaagtt ccgagattgg ttctgatggc 60  
 gacacgaaag tgaagcgggt ggaatgaaac agaattt 97

<210> 117  
 <211> 99  
 <212> DNA  
 <213> *Serratia plymuthica*

<400> 117  
 caacaccgaa ggtgtttttg agagattaca gtagattttc agcgacgttc cgagattggt 60  
 ttcaatggcc caaaaggcgg ttggaatgaa acagaattt 99

<210> 118  
 <211> 100  
 <212> DNA  
 <213> *Serratia proteamaculans*

<400> 118  
 caacacccaaa ggtgtttttg agagattgta gagattttca gcgagttccg agattggttt 60  
 caatggctgc gagagtagcg gttggaatga aacanaattt 100

<210> 119  
 <211> 101  
 <212> DNA  
 <213> *Serratia rubidea*

<400> 119  
 caacaccgaa ggtgttttag agagattggt ttgaattttc agtgaagttc cgagattggt 60  
 tctgatggct acggagtagc ggtcgggatg aaacagaatt t 101

<210> 120  
 <211> 116  
 <212> DNA  
 <213> *Yersinia enterocolitica*

<400> 120  
 caacacccaaa ggtgtttttag atttgagaga tagatattga ttttcagcga atgttccgag 60  
 attgggctgg ctggctgtgt gaaagattgc atagcgggtt agtttagaca gaattt 116

<210> 121  
 <211> 104  
 <212> DNA  
 <213> *Yersinia pseudotuberculosis*

<400> 121  
 caacaccgaa gtcttgaatt gagagagatt ttcagcgtcg ttccgagatt ggattgactg 60  
 gcgtcacaag cgctgtttgt gtgcgggtta attaaaacag attt 104

<210> 122  
 <211> 179  
 <212> DNA  
 <213> *Acinetobacter calcoaceticus*

<400> 122  
 caacacccaa gcagttgtat ataaagcatc aatcgattca ttaatatgca aagcaacttg 60  
 atttagttat acgcttagct aaaatgaaca aaatatagta agactcaatc agcccatctg 120  
 taaagatttg gaaaacgcgt cggcaaccaa taagaccaat gcaagtatcc ataccagtt 179

<210> 123  
 <211> 118  
 <212> DNA  
 <213> *Aeromonas enteropelogenes*

<400> 123  
~~caacacccaa gaagtgtttt tggtgtttgt agagaatgaa cgaactacgc attcagtgat 60~~  
 aacgacaagc cagcagcaac atcgttattc acgtcagctt tccaagattg aagatttt 118

<210> 124  
 <211> 81  
 <212> DNA  
 <213> *Aeromonas hydrophila*

<400> 124  
 caacacccaa gaagtgttct aaggcttgta gcagataccg agaacgaaca acaaaatcag 60  
 ctttctcaga ttgaagaatt t 81

<210> 125

<211> 96  
 <212> DNA  
 <213> *Cedecea davisae*

<400> 125  
 caacacccaaa ggtgtttttgc gagacgcaat ttttaattttc agcgaagtgc aggattagac 60  
 tgatgggtcac aaagtgcggt tcagtaaaca gaattt 96

<210> 126  
 <211> 217  
 <212> DNA  
 <213> *Haemophilus influenzae*

<400> 126  
 caacgctcaa gtgttttttg gagctaagtg aagtaagaga tgaaaagcga agcaaataaa 60  
 agcagagcga aagagaagta aaagactaaa caaagaaaag taaatataga agacttaata 120  
 gaaagaaaat cggattcagc ttgtgaccaa taagaacgag tgaaaggtag aggaaagact 180  
 gagtaacgag agataaaaaga gacgagagat aaaagag 217

<210> 127  
 <211> 90  
 <212> DNA  
 <213> *Moraxella catarrhalis*

<400> 127  
 caacaccccaa gtgggtttacc actgactgtg ttgattggta atatataaga tgaaccttaa 60  
 tcttgatttg gtaataaaca gactcataca 90

<210> 128  
 <211> 134  
 <212> DNA  
 <213> *Pasteurella pneumotropica*

<400> 128  
 cgaggactta accaaatttg tttatcgtaa caatgtcgtt tatccagttt tgaaagaata 60  
 aattttttatt aaataactct tgcattattc tacagagttg ttataataaa acatgtcctt 120  
 caaaagtatt caag 134

<210> 129  
 <211> 141  
 <212> DNA  
 <213> *Stenotrophomonas multophila*

<400> 129  
 taaccttgggt agtccaaggt cgagtacaac tgctcgatac aaaagctaca acccnactta 60  
 cttcttccag attcatggcc acgctgaaca aagcgtaggg tgggcggctg tncgcgccac 120  
 gcgtaactca agcgtagcca g 141

<210> 130  
 <211> 100  
 <212> DNA  
 <213> *Vibrio alginolyticus*

<400> 130  
 caacaccccaa ggggttttga tggactcaat gaaagaacat tgaatgtgta agaacgagaa 60  
 ttaaaaaaca gctttccaga ttaaagaatt tgcttgccga 100



<210> 131  
 <211> 122  
 <212> DNA  
 <213> *Vibrio fisheri*

<400> 131  
 caacacccaa gtgggtttgta tcaagcatta tatcgatatc accggttatcc ttgattcagt 60  
 taggataagt gatacttaag tcattaagta aaacaaacac agactcatat ctaaccccct 120  
 tt 122

<210> 132  
 <211> 122  
 <212> DNA  
 <213> *Vibrio harveyi*

<400> 132  
 caacacccaa gtgggtttgta tcaagcatta tatcgatatc accggttatcc ttgattcagt 60  
 taggataagt gatacttaag tcattaagta aaacaaacac agactcatat ctaaccccct 120  
 tt 122

<210> 133  
 <211> 89  
 <212> DNA  
 <213> *Vibrio parahaemolyticus*

<400> 133  
 caacacccaa ggggttttga tggactcgaa gcaagaacag aattgaatgt gtagagaaca 60  
 caaaaacagc tttccgaatt aaagaattt 89

<210> 134  
 <211> 169  
 <212> DNA  
 <213> *Vibrio proteolyticus*

<400> 134  
 caacacccaa ggggttttga tggactcaat gaaagaacat tgaatgtgta agaacgagaa 60  
 ttaaaaaaca gctttccgaa ttaggaatt gaatttatta acgacatcca tgctcgtaac 120  
 ccttcggggc gcactgaagt gcgttaaatt ttgttcaga caaaatttt 169

<210> 135  
 <211> 33  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

---

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Gattungen der Enterobakterien

<400> 135  
 gcctggcggc actagcgcg tggtcccacc tga 33

<210> 136  
 <211> 33  
 <212> DNA  
 <213> *Buttiauxella agrestis*

<400> 136  
 gcctggcggc agtagcgcg tggtcccacc tga 33

<210> 137  
 <211> 33  
 <212> DNA  
 <213> *Enterobacter agglomerans*

<400> 137  
 gcctggcggc tttagcgcg tggtcccacc tga 33

<210> 138  
 <211> 33  
 <212> DNA  
 <213> *Erwinia carotovora*

<400> 138  
 gcctggcggc gatagcgcg tggtcccacc tga 33

<210> 139  
 <211> 33  
 <212> DNA  
 <213> *Erwinia chrysanthemi*

<400> 139  
 gcctggcggc ggtagcgcg tggtcccacc tga 33

<210> 140  
 <211> 33  
 <212> DNA  
 <213> *Escherichia coli*

<400> 140  
 gcctggcggc agtagcgcg tggtcccacc tga 33

<210> 141  
 <211> 33  
 <212> DNA  
 <213> *Escherichia hermannii*

<400> 141  
 gcctggcggc aagagcgcg tggtcccacc tga 33

---

<210> 142  
 <211> 33  
 <212> DNA  
 <213> *Escherichia vulneris*

<400> 142  
 gcctggcggc actagcgcg tggtcccacc tga 33

<210> 143  
 <211> 33  
 <212> DNA  
 <213> *Hafnia alvei*

<400> 143  
 gcctggcggc gatagcgcg tggtcccacc tga 33

<210> 144  
 <211> 32  
 <212> DNA  
 <213> *Klebsiella oxytoca*

<400> 144  
 gcctggcggc actagcgcg tggtccacct ga 32

<210> 145  
 <211> 33  
 <212> DNA  
 <213> *Kluyvera cryoescens*

---

<400> 145  
 gcctggcggc aacagcgcg tggtcccacc tga 33

<210> 146  
 <211> 33  
 <212> DNA  
 <213> *Morganella morganii*

<400> 146  
 gcctggcggc cgtagcgcg tggtcccacc tga 33

<210> 147  
 <211> 31  
 <212> DNA  
 <213> *Pantoea dispersa*

<400> 147  
 gcctggcggc aacagccgcg gtggtcccac c 31

<210> 148  
 <211> 33  
 <212> DNA  
 <213> *Proteus mirabilis*

<400> 148  
 gcttggtggc catagcgcg tggtcccacc tga 33

---

<210> 149  
 <211> 33  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattungen *Proteus*, *Providencia*

<400> 149  
 gtctggcggc aatagcacgg tggtcccacc tga 33

<210> 150  
 <211> 33  
 <212> DNA

<213> *Rahnella aquatilis*

<400> 150

gcctggcggc agtagcgcg tggtcccacc tga

33

<210> 151

<211> 33

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von Arten der Gattung *Serratia*

---

<400> 151

gcctggcggc aatagcgcg tggtcccacc tga

33

<210> 152

<211> 33

<212> DNA

<213> *Yersinia enterolytica*

<400> 152

gcctggcggc catagcgcg tggacccacc tga

33

<210> 153

<211> 33

<212> DNA

<213> *Yersinia pseudotuberculosis*

<400> 153

gtctggcggc catagcgcg tggtcycacc tga

33

<210> 154

<211> 51

<212> DNA

<213> *Acinetobacter calcoaceticus*

<400> 154

aagtatccat accagttgtg ctggcgacca tagcaagagt gaaccacctg a

51

<210> 155

<211> 33

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von Arten der Gattung *Aeromonas*

<400> 155

gcctggcggc catagcgccg tggaaccacc tga

33

<210> 156

<211> 51

<212> DNA

<213> *Haemophilus influenzae*

<400> 156  
aaaagacgag ttatcaaaga attatcctgg cggcgatagt gcggtggacc c 51

<210> 157  
<211> 54  
<212> DNA  
<213> Moraxella catarrhalis

<400> 157  
acagcgttgt taatcctttt acgctgacga caatagcaag atggaaccac ctga 54

<210> 158  
<211> 43  
<212> DNA  
<213> Pasteurella pneumotropica

<400> 158  
tctagtgatg atggcgaaga ggtcacaccc gttcccatc cga 43

<210> 159  
<211> 54  
<212> DNA  
<213> Stenotrophomonas multophila

<400> 159  
acaagtcaaa gcctgatgac catagcaagt cgggccacc ccttcccatc ccga 54

<210> 160  
<211> 33  
<212> DNA  
<213> Vibrio alginolyticus

<400> 160  
gcttggcgac catagcggtt tggaccacc tga 33

<210> 161  
<211> 51  
<212> DNA  
<213> Vibrio fisheri

<400> 161  
ctcatatcta accccctttg ctgacgaaa tagcacgatg gcaccacctg a 51

<210> 162  
<211> 45  
<212> DNA  
<213> Vibrio harveyi

<400> 162  
gcttggcgac catagcgatt tggaccacc tgacttccat tccga 45

<210> 163  
<211> 33  
<212> DNA  
<213> Vibrio proteolyticus

<400> 163  
gcttggcgac catagcgttt tggacccacc tga 33

<210> 164  
<211> 37  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von Arten der Gattungen Rahnella, Serratia,  
Yersinia

---

<400> 164  
agattttcag cgaagttccg agattggttt caatggc 37

<210> 165  
<211> 18  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von Arten der Gattungen Enterobacter, Escherichia,  
Klebsiella, Pantoea

<400> 165  
ggaaggagca taciiaagtat 18

<210> 166  
<211> 32  
<212> DNA  
<213> Budvicia aquatica

<400> 166  
aggtccctga aggaacgttt gagactaaga cg 32

<210> 167  
<211> 32  
<212> DNA  
<213> Buttiauxella agrestis

---

<400> 167  
~~aggtccctga aggaacgttt gagactaaga cg~~ 32

<210> 168  
<211> 32  
<212> DNA  
<213> Enterobacter agglomerans

<400> 168  
aggacactaa aggaacgttg aagacgacga cg 32

<210> 169  
<211> 32  
<212> DNA

<213> *Erwinia carotovora*

<400> 169

atgccctga agggccgttg aagactacga cg 32

<210> 170

<211> 32

<212> DNA

<213> *Erwinia chrysanthemi*

<400> 170

agggccctga agggacgttt aagacgaaga cg 32

---

<210> 171

<211> 29

<212> DNA

<213> *Escherichia coli*

<400> 171

agggtcctga aggaacgttg aagacgacg 29

<210> 172

<211> 32

<212> DNA

<213> *Escherichia hermannii*

<400> 172

agagtcctga aggaacgttg aagacgacga cg 32

<210> 173

<211> 32

<212> DNA

<213> *Escherichia vulneris*

<400> 173

agtctcctga aggaacgttg aagacgacga cg 32

<210> 174

<211> 32

<212> DNA

<213> *Hafnia alvei*

<400> 174

---

agtctcttaa aggaacgttt aagactaaga cg 32

<210> 175

<211> 32

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von Arten der Gattungen *Klebsiella*, *Kuyvera*

<400> 175

agggtcctga aggaacgttg aagacgacga cg 32

<210> 176  
 <211> 32  
 <212> DNA  
 <213> *Morganella morganii*

<400> 176  
 agggtcctga aggaacgttt gagactaaga cg 32

<210> 177  
 <211> 32  
 <212> DNA  
 <213> *Pantoea dispersa*

<400> 177  
 agggtcctga agggacgctg aagacgacga cg 32

<210> 178  
 <211> 32  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung *Pantoea*

<400> 178  
 aggacactaa aggaacgtta aagacgatga cg 32

<210> 179  
 <211> 32  
 <212> DNA  
 <213> *Proteus mirabilis*

<400> 179  
 agtgacctaa aggaacgttt aagactaaga cg 32

<210> 180  
 <211> 32  
 <212> DNA  
 <213> *Proteus rettgeri*

<400> 180  
 agggtcctaa aggaacgttt aagactaaga cg 32

<210> 181  
 <211> 32  
 <212> DNA  
 <213> *Providencia stuartii*

<400> 181  
 agggtcctaa aggaacgttt aagacgaaga cg 32

<210> 182  
 <211> 32  
 <212> DNA  
 <213> *Rahnella aquatilis*



<400> 182  
agccaccta agggacgttt aagactaaga cg 32

<210> 183  
<211> 32  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von Arten der Gattung Serratia

<400> 183  
agggcccta aggaacgttt aagactaaga cg 32

<210> 184  
<211> 32  
<212> DNA  
<213> Yersinia enterocolitica

<400> 184  
agggcccta aggaacgtta aagactatga cg 32

<210> 185  
<211> 32  
<212> DNA  
<213> Yersinia pseudotuberculosis

<400> 185  
agggcccta gggaacgtta aagactatga cg 32

<210> 186  
<211> 32  
<212> DNA  
<213> Cedecea davisae

<400> 186  
agggcccta agggacgttg aagactacga cg 32

<210> 187  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von Arten der Gattungen Buttiauxella, Escherichia,  
Klebsiella, Kluyvera, Pantoea

<400> 187  
agatgagttc tccctgaccc ttta 24

<210> 188  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

&lt;220&gt;

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von Arten der Gattungen Enterobacter, Pantoea

&lt;400&gt; 188

agatgagttc tcccttgtcc ttta

24

&lt;210&gt; 189

&lt;211&gt; 24

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Erwinia carotovora

&lt;400&gt; 189

agatgagtct tccctgggca ccag

24

&lt;210&gt; 190

&lt;211&gt; 24

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Erwinia chrysanthemi

&lt;400&gt; 190

agatgagtct tccctgggcc cttg

24

&lt;210&gt; 191

&lt;211&gt; 24

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Escherichia hermannii

&lt;400&gt; 191

agatgagttc tccctgactc cttg

24

&lt;210&gt; 192

&lt;211&gt; 24

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Escherichia vulneris

&lt;400&gt; 192

agatgagttc tccctgagac ttta

24

&lt;210&gt; 193

&lt;211&gt; 24

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Hafnia alvei

&lt;400&gt; 193

agatgagtct tccctgagac cttg

24

&lt;210&gt; 194

&lt;211&gt; 24

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Morganella morganii

&lt;400&gt; 194

agatgagtct tccctgaccc ttta

24

<210> 195  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> *Proteus mirabilis*

<400> 195  
 agatgagtct tccctgtcac ttta 24

<210> 196  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> *Proteus rettgeri*

<400> 196  
 agatgagtct tccctgaccc ttta 24

<210> 197  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> *Providencia stuartii*

<400> 197  
 agatgagtct tccctgactc ttta 24

<210> 198  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> *Rahnella aquatilis*

<400> 198  
 agatgagtct tccctgtggc ttta 24

<210> 199  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> *Yersinia enterocolytica*

<400> 199  
 agatgagtct tccctggggc ttta 24

<210> 200  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> ~~*Yersinia pseudotuberculosis*~~

<400> 200  
 agatgagtct tccctggggc ttaa 24

<210> 201  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> *Cedecea davisae*

<400> 201  
 agatgaattc tccctgggtc cttg 24

<210> 202  
 <211> 199  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung Citrobacter

<400> 202  
 caacgccgaa gatgttttgg cggattgag aagattttca gcattgattc agagtccgaa 60  
 ggatttttgcg ctgagacaag gcggcawccc caccacggaa ggagcataca aaagtatgtg 120  
 actgaggttc gcaagcgag ccaacgcagt atcagcacia aagacacagg acagagcaca 180  
 aagaatttct ggcggccgt 199

<210> 203  
 <211> 199  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung Citrobacter

<400> 203  
 caacgccgaa gatgttttgg cggattgaga agattttcag tattgattac agatttttgcg 60  
 aaaacgaaaag attttacgct gaggcaaggc ggcaagtga ggcacggaag kggcatacaa 120  
 aagtatgtga ctgaggttcg caggcgcagc caacgcagca tcagtggaaa agattcgttt 180  
 taagagcaca aagaatttc 199

<210> 204  
 <211> 199  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung Salmonella

<400> 204  
 caacscsaa gatgttttgg csgatsagag argattttca gcaactgattc ckgatttttcg 60  
 vgaacgaaag attttacgct gaggcaaggc rgcaavcgaa ggaaaggaag gagcatactg 120  
 aagtatgtga ctgactttac gagcgcagcc aacgctagca tcsgtgtaaa agattcgttt 180  
 ctggcaacag aatttcctg 199

<210> 205  
 <211> 201  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung Salmonella

<400> 205  
 caacgccgaa gctgttttgg cggatranaa sacgaacaat tttcagcact gattcagagt 60  
 tgagtacgca ataatttgcg cagcagcaag gcggcaagcg aaggaaagga aggagcatac 120  
 agaagtatgt gactgacttt acgagcgag ccaacgccgc tgatgcgata aagaattgcg 180  
 tacagagcac aaaagaatat t 201

<210> 206  
 <211> 193  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung Salmonella

<400> 206

```
caacgccgaa gatgttttgg csgttgagaa gacgattttc agcagtgatt ccgrgttgag 60
trcgcmrtaa tttkcgcmgc wgcarggcgg cargcgaagg arrggaggga gcatccwgaa 120
gtatktgact gagttttcgr gcgcwggcam cgccgctgat gcgataaaga attgcgtach 180
gmgcacamag aat 193
```

---

<210> 207  
 <211> 199  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung Salmonella

<400> 207

```
caacgccgaa gatgttttgg cggattgaga gacgattttc agcactgatt ccggattttc 60
gggaacgaaa gatttttacgc tgaggcaagg cggcaaatgr aggaaaggaa ggagcatact 120
gaagtatgtg actgactttt cgaatgcagc cgacgcagca tcggtgtaaa agattcgttt 180
ccggcaacag aattgtcct 199
```

<210> 208  
 <211> 189  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung Salmonella

<400> 208

```
caacgccgaa gatgttttgg cggatgagag acgattttca gcaactgattc agagttgagt 60
acgcaataat ttgcgcagca gcaaggcggc aagcgaagga aaggaaggag catacagaag 120
tatgtgactg agttttacgag cgcaggcaac gccgctgatg cgataaagaa ttgcgtactg 180
agcataaaa 189
```

---

<210> 209  
 <211> 196  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung Salmonella

<400> 209

```
caacgccgaa gatgttttgg cggattgaga agacaacaat tttcagcyca gattcagagt 60
ccgaagatt ttacgctgag acaaggcggc aaacgcagcs mcsgaaggas cmycacagaa 120
gtatgtgact gacgctcgca agagcagcca acgcgctatc agtgtaaaag acacaggacg 180
grgcacaaa aaattt 196
```

<210> 210  
 <211> 77  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung Salmonella

<400> 210  
 gagagacgat tttcagcact gattccggat tttcgggaac gaaagataaa agattcggtt 60  
 ccggcaacag aatttcc 77

---

<210> 211  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten und Gattungen der Eubakterien

<400> 211  
 ggtacgcgag ctgggttttag aacg 24

<210> 212  
 <211> 19  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten und Gattungen der Eubakterien

<400> 212  
 gbgagagtag gdmayygcc 19

<210> 213  
 <211> 54  
 <212> DNA  
 <213> Pseudomonas stutzeri

<400> 213  
 ccggagtggg cgaacctctg gtgttccggt tgtcacgcca gtggcattgc cggg 54

---

<210> 214  
 <211> 53  
 <212> DNA  
 <213> Thiobacillus ferrooxidans

<400> 214  
 ccggagtggg cgtactctgg tgttccggtt gttctgccaa gggcattgcc ggg 53

<210> 215  
 <211> 54  
 <212> DNA

<213> *Agrobacterium vitis*

<400> 215

ccgggatgga catatctctg gtggacctgt tgtcgtgcc aacggcatagc aggg 54

<210> 216

<211> 54

<212> DNA

<213> *Adalia bipunctata*

<400> 216

ccgaggatgga cgtacctctg gtggaccagt tgtcatgcc atggcacagc tggg 54

<210> 217

<211> 54

<212> DNA

<213> *Amycolatopsis orientalis*

<400> 217

ccgggacgga cgaacctctg gtgtgccagt tgtcctgcc agggcatggc tggg 54

<210> 218

<211> 54

<212> DNA

<213> *Brucella ovis*

<400> 218

ccgggatgga cgtatctntg gtggacctgt tgtggcgcca gccgcatagc aggg 54

<210> 219

<211> 54

<212> DNA

<213> *Bradyrhizobium japonicum*

<400> 219

ccggggtgaa cgtacctctg gtggagctgt tgtcgcgcca gcggcagtgc agca 54

<210> 220

<211> 54

<212> DNA

<213> *Pseudomonas paucimobilis*

<400> 220

ccgggatgga cgcaccgctg gtgtaccagt tgttctgcc agggcatcgc tggg 54

<210> 221

<211> 54

<212> DNA

<213> *Rhodobacter sphaeroides*

<400> 221

ccgggatgga cgcaccgctg gtgtaccagt tgttctgcc agggcatcgc tggg 54

<210> 222

<211> 57

<212> DNA

<213> *Rickettsia prowazekii*

<400> 222  
ccgaggtgga cgtacccttg gtggaccagt tgtcgtgcca acggcaagct gggtagc 57

<210> 223

<211> 54

<212> DNA

<213> *Sphingomonas paucimobilis*

<400> 223  
ccggagtgga cgaacctctg gtgtaccggt tgtcacgcca gtggcattgc cggg 54

<210> 224

<211> 54

<212> DNA

<213> *Zymomonas mobilis*

<400> 224  
ccggggtgaa catgcctctg gtggacctgt cgtggcgcca gccgcgcagc aggg 54

<210> 225

<211> 54

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von Arten der Gattung *Alcaligenes*

<400> 225  
ccagagtgga cgaacctctg gtgtaccggt tgtgacgcca gtcgcatcgc cggg 54

<210> 226

<211> 53

<212> DNA

<213> *Pseudomonas cepacia*

<400> 226  
ccgggacgac gaacctctgg tgtgtcagtt gtactgcca gtgcaccgct gat 53

<210> 227

<211> 54

<212> DNA

<213> *Ralstonia pickettii*

<400> 227  
ccggagtgga cgaacctctg gtgttccggt tgtcacgcca gtggcattgc cggg 54

<210> 228

<211> 54

<212> DNA

<213> *Campylobacter jejuni*

<400> 228  
ccgggttgaa caaaccactg gtgtagctgt tgttctgcca agagcatcgc agcg 54



<210> 229  
 <211> 53  
 <212> DNA  
 <213> *Helicobacter pylori*

<400> 229  
 ccgggatgga cgtgtcactg gtgcaccagt tgtctgcca gagcatcgct ggg 53

<210> 230  
 <211> 53  
 <212> DNA  
 <213> *Actinoplanes utahensis*

<400> 230  
 ccgggacgga cgaacctctg gtgtgccagt tgttctgcca agagcacggc tgg 53

<210> 231  
 <211> 54  
 <212> DNA  
 <213> *Bacillus halodurans*

<400> 231  
 ccgggatgga cacaccgctg gtgtaccagt tgttcgcca ggagcatcgc tggg 54

<210> 232  
 <211> 54  
 <212> DNA  
 <213> *Bacillus subtilis*

<400> 232  
 ccgggatgga cgcaccgctg gtgtaccagt tgttctgcca agggcatcgc tggg 54

<210> 233  
 <211> 54  
 <212> DNA  
 <213> *Clostridium tyrobutyricum*

<400> 233  
 ccgggatgga ctgacctctg gtgtaccagt tgttcgcca ggagcatggc tggg 54

<210> 234  
 <211> 54  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung Frankia

<400> 234  
 ccgggacgga cgaacctctg gtgtgccagt tgttctgcca agggcatggc tggg 54

<210> 235  
 <211> 54  
 <212> DNA  
 <213> *Microbispora bispora*

<400> 235  
ccggaacgga cgaacctctg gtgtgccagt tgtgccgcca ggtgcacggc tggg 54

<210> 236  
<211> 54  
<212> DNA  
<213> Mycobacterium leprae

<400> 236  
ccgggacgga cgaacctctg gtataccagt tgtctcacca ggggcaccgc tgga 54

<210> 237  
<211> 54  
<212> DNA  
<213> Mycobacterium smegmatis

<400> 237  
ccgggacgga cgaacctctg gtataccagt tgtccacca ggggcacggc tgga 54

<210> 238  
<211> 54  
<212> DNA  
<213> Mycobacterium tuberculosis

<400> 238  
ccgggacgga cgaacctctg gtgcaccagt tgtcccgcca ggggcaccgc tgga 54

<210> 239  
<211> 54  
<212> DNA  
<213> Mycobacterium gallisepticum

<400> 239  
ccggagtga gacacctctt gtgctccagt tgtagcgcca actgcaccgc tggg 54

<210> 240  
<211> 58  
<212> DNA  
<213> Propionibacterium freudenreichii

<400> 240  
ccgggacgga ccaacctctg gtgtgccagt tgttccacca ggagcatggc tggttggc 58

<210> 241  
<211> 54  
<212> DNA  
<213> Rhodococcus erythropolis

<400> 241  
ccgggacgga cgaacctctg gtgtgccagt tgttccgcca ggagcaccgc tggg 54

<210> 242  
<211> 57  
<212> DNA  
<213> Rhodococcus fascians

<400> 242  
ccgggacgac gaacctctgg tgtgccagtt gttccaccag gagcaccgct ggttggc 57

<210> 243  
<211> 58  
<212> DNA  
<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 243  
ccgggatgga catacctctg gtgtaccagt tgtcgtgcc aaggcatagc tgggtagc 58

<210> 244  
<211> 54  
<212> DNA  
<213> *Streptococcus faecalis*

<400> 244  
ccgggatgga cttncgctg gtgtaccagt tgttctgcc aaggcattgc tggg 54

<210> 245  
<211> 54  
<212> DNA  
<213> *Streptomyces ambifaciens*

<400> 245  
ccgggatgga cttncgctg gtgtaccagt tgttctgcc aaggcattgc tggg 54

<210> 246  
<211> 54  
<212> DNA  
<213> *Flavobacterium resinovorum*

<400> 246  
ccggagtgga cgtaccgctg gtgtacctgt tgtctcgcca gaggcacgc aggg 54

<210> 247  
<211> 54  
<212> DNA  
<213> *Sphingobacterium multivorans*

<400> 247  
ccgggttgga cagacctctg gtgaacctgt catnccgcca ggtgtacggc aggg 54

<210> 248  
<211> 54  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von Arten der Gattung *Synechococcus*

<400> 248  
ccggaggaac gcaccgctgg tgtaccagtt atcgtgcaa cggtaaacgc tggg 54

<210> 249  
 <211> 55  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung *Synechocystis*

<400> 249  
 ccgggaagta cgcacctctg gtgtacctgt tatcgtgcc aacggtaaagc caggg 55

<210> 250  
 <211> 59  
 <212> DNA  
 <213> *Borrelia burgdorferi*

<400> 250  
 ccgagatgga cgaacctcta gtgtaccagt tatcctgcc aaggtaagtg ctgggtagc 59

<210> 251  
 <211> 58  
 <212> DNA  
 <213> *Chlamydia trachomatis*

<400> 251  
 ccggaatgga cgaaccaatg gtgtgtcggg tgttttgcca agggcatagc cgagtagc 58

<210> 252  
 <211> 42  
 <212> DNA  
 <213> *Pseudomonas stutzeri*

<400> 252  
 gagataaccg ctgaaagcat ctaagcggga aacttcctc aa 42

<210> 253  
 <211> 41  
 <212> DNA  
 <213> *Thiobacillus ferrooxidans*

<400> 253  
 gggataaccg ctgaaagcat ctaagcggga gccatcctaa g 41

---

<210> 254  
 <211> 41  
 <212> DNA  
 <213> *Agrobacterium vitis*

<400> 254  
 tggataaccg ctgaaggcat ctaagcggga aaccaacctg a 41

<210> 255  
 <211> 41  
 <212> DNA  
 <213> *Adalia bipunctata*

<400> 255  
gggataaccg ctgaatgcat ctaagcagga aactcacctc a 41

<210> 256  
<211> 41  
<212> DNA  
<213> *Amycolatopsis orientalis*

<400> 256  
aggataaccg ctgaaagcat ctaagcgga agcctgcttc g 41

<210> 257  
<211> 42  
<212> DNA  
<213> *Brucella ovis*

<400> 257  
gggataaccg ctgaaggcat ntaagcgga aaccacctg aa 42

<210> 258  
<211> 41  
<212> DNA  
<213> *Bradyrhizobium japonicum*

<400> 258  
gggataaccg ctgaaagcat ctaagcgga aaccacctc a 41

<210> 259  
<211> 41  
<212> DNA  
<213> *Pseudomonas paucimobilis*

<400> 259  
gggataagtg ctgaaagcat ctaagcatga agcccccttc a 41

<210> 260  
<211> 41  
<212> DNA  
<213> *Rhodobacter sphaeroides*

<400> 260  
aggataaccg ctgaaggcat ctaagcgga agcccccttc a 41

---

<210> 261  
<211> 40  
<212> DNA  
<213> *Rickettsia prowazekii*

<400> 261  
gggataactg ctgaatgcat ctaagcagga aaccacctc 40

<210> 262  
<211> 41  
<212> DNA  
<213> *Sphingomonas paucimobilis*

<400> 262  
gagataaccg ctgaaagcat ctaagcggga aacttgccctt g 41

<210> 263  
<211> 41  
<212> DNA  
<213> *Zymomonas mobilis*

<400> 263  
gggataaccg ctgaaagcat ctaagcggga agcctccctc a 41

<210> 264  
<211> 41  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von Arten der Gattung *Alcaligenes*

<400> 264  
gggataaccg ctgaaagcat ctaagcggga agcctacctc a 41

<210> 265  
<211> 41  
<212> DNA  
<213> *Pseudomonas cepacia*

<400> 265  
gggataaccg ctgaaagcat ctaagcggga agctcgcttc a 41

<210> 266  
<211> 41  
<212> DNA  
<213> *Ralstonia pickettii*

<400> 266  
gagataaccg ctgaaagcat ctaagcggaa aacttgccctc a 41

<210> 267  
<211> 41  
<212> DNA  
<213> *Campylobacter jejuni*

<400> 267  
aggataaacg ctgaaagcat ctaagcgtga agccaactct a 41

<210> 268  
<211> 42  
<212> DNA  
<213> *Helicobacter pylori*

<400> 268  
tgtgataact gctgaaagca tctaagcagg aaccaactcc aa 42

<210> 269

<211> 41  
 <212> DNA  
 <213> *Actinoplanes utahensis*

<400> 269  
 gggataaccg ctgaaagcat ctaagcggga agctcgcttc g 41

<210> 270  
 <211> 41  
 <212> DNA  
 <213> *Bacillus halodurans*

<400> 270  
 gggataagtg ctgaaagcat ctaagcatga agccccctc a 41

---

<210> 271  
 <211> 40  
 <212> DNA  
 <213> *Clostridium tyrobutyricum*

<400> 271  
 gggataaacg ctgaaagcat ctaagcgtga agcccacctc 40

<210> 272  
 <211> 41  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung *Frankia*

<400> 272  
 gggataaccg ctgaaagcat ctaagcggga agcctgcttc g 41

<210> 273  
 <211> 41  
 <212> DNA  
 <213> *Microbispora bispora*

<400> 273  
 gggataaccg ctgaaagcat ctaagcggga agcccgcccc g 41

---

<210> 274  
 <211> 41  
 <212> DNA  
 <213> *Mycobacterium leprae*

<400> 274  
 aagataaccg ctgaaagcat ctaagcggga aaccttctcc a 41

<210> 275  
 <211> 41  
 <212> DNA  
 <213> *Mycobacterium smegmatis*

<400> 275

aggataaccg ctgaaagcat ctaagcggga aacctcttcc a 41

<210> 276

<211> 41

<212> DNA

<213> Mycobacterium tuberculosis

<400> 276

aggataaccg ctgaaagcat ctaagcggga aaccttctcc a 41

<210> 277

<211> 41

<212> DNA

<213> Mycobacterium gallisepticum

<400> 277

cggataaacg ctgaaagcat ctaagtgtga aaccgacttt a 41

<210> 278

<211> 43

<212> DNA

<213> Propionibacterium freudenreichii

<400> 278

agtgataacc gctgaaagca tctaagtggg aagcacgctt caa 43

<210> 279

<211> 41

<212> DNA

<213> Rhodococcus erythropolis

<400> 279

gggataaccg ctgaaagcat ctaagcggga agcctgttcc a 41

<210> 280

<211> 41

<212> DNA

<213> Staphylococcus aureus

<400> 280

gggataagtg ctgaaagcat ctaagcatga agccccctc a 41

<210> 281

<211> 41

<212> DNA

<213> Streptococcus faecalis

<400> 281

gggataaacg ctgaaagcat ctaagtgtga agcccnctc a 41

<210> 282

<211> 41

<212> DNA

<213> Streptomyces ambifaciens

<400> 282



gggataaccg ctgaaagcat ctaagcggga agcctgcttc g 41

<210> 283  
 <211> 41  
 <212> DNA  
 <213> Flavobacterium resinovorum

<400> 283  
 gagataaccg ctgaaagcat ctaagcggga aactcgccctg a 41

<210> 284  
 <211> 41  
 <212> DNA  
 <213> Sphingobacterium multivorans

<400> 284  
 tagataagcg ctgaaagcat ctaagtgcga aactagccac g 41

<210> 285  
 <211> 43  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung Synechococcus

<400> 285  
 gtggataacc gctgaaagca tctaagtggg aagcccacct caa 43

<210> 286  
 <211> 43  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung Synechocystis

<400> 286  
 gtggataacc gctgaaagca tctaagtggg aagcccacct caa 43

<210> 287  
 <211> 41  
 <212> DNA  
 <213> Borrelia burgdorferi

<400> 287  
 aggataaccg ctgaaagcat ctaagtggga agccttcctc a 41

<210> 288  
 <211> 41  
 <212> DNA  
 <213> Chlamydia trachomatis

<400> 288  
 aggataagca ttgaaagcat ctaaagcca agcctccctc a 41

<210> 289  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> *Pseudomonas stutzeri*

<400> 289  
 agatgagatc tcaactggagc cttg 24

<210> 290  
 <211> 19  
 <212> DNA  
 <213> *Thiobacillus ferrooxidans*

<400> 290  
 atgagatctc ccgggcata 19

<210> 291  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> *Agrobacterium vitis*

<400> 291  
 aaacgagtat tccctatc 18

<210> 292  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> *Adalia bipunctata*

<400> 292  
 aaactagact tccccatc 18

<210> 293  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> *Amycolatopsis orientalis*

<400> 293  
 agatgagggc tccacctcc ttg 23

<210> 294  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> *Brucella ovis*

<400> 294  
 aaacgagtat tccctatc 18

<210> 295  
 <211> 17  
 <212> DNA  
 <213> *Bradyrhizobium japonicum*

<400> 295  
 aaacgagcat tcccttg 17

<210> 296  
 <211> 22  
 <212> DNA  
 <213> *Pseudomonas paucimobilis*

<400> 296  
 agatgagatt tcccattccg ca 22

<210> 297  
 <211> 22  
 <212> DNA  
 <213> *Rhodobacter sphaeroides*

---

<400> 297  
 agatgagatt tcccattccg ca 22

<210> 298  
 <211> 18  
 <212> DNA  
 <213> *Rickettsia prowazekii*

<400> 298  
 aaactagact tccccatt 18

<210> 299  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> *Sphingomonas paucimobilis*

<400> 299  
 agatgagatt tcccggagcc ttg 23

<210> 300  
 <211> 14  
 <212> DNA  
 <213> *Zymomonas mobilis*

<400> 300  
 agataagata tctc 14

---

<210> 301  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung *Alcaligenes*

<400> 301  
 agataagatt tccctaggac ttta 24

<210> 302  
 <211> 23  
 <212> DNA

<213> *Pseudomonas cepacia*

<400> 302

agatgagatt tccatacacc ttg 23

<210> 303

<211> 24

<212> DNA

<213> *Ralstonia pickettii*

<400> 303

agatgagatc\_tcactggaac cttg 24

<210> 304

<211> 24

<212> DNA

<213> *Campylobacter jejuni*

<400> 304

agatgaatct tctctaagct ctct 24

<210> 305

<211> 13

<212> DNA

<213> *Helicobacter pylori*

<400> 305

gataaacttt ccc 13

<210> 306

<211> 23

<212> DNA

<213> *Actinoplanes utahensis*

<400> 306

agatgaggta tcccaccacc ttg 23

<210> 307

<211> 22

<212> DNA

<213> *Bacillus halodurans*

<400> 307

agatgagatt tcccatggag ta 22

<210> 308

<211> 22

<212> DNA

<213> *Clostridium tyrobutyricum*

<400> 308

agattagatt tcccacagcg ta 22

<210> 309

<211> 23

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von Arten der Gattung Frankia

<400> 309

agatgaggtc tcccacaggg tag

23

<210> 310

<211> 23

<212> DNA

<213> Microbispora bispora

---

<400> 310

agatgaggtc tccctccggg tta

23

<210> 311

<211> 22

<212> DNA

<213> Mycobacterium leprae

<400> 311

agatcaggtt tcttaccac tt

22

<210> 312

<211> 22

<212> DNA

<213> Mycobacterium smegmatis

<400> 312

agaccaggct tctcaccctc ta

22

<210> 313

<211> 22

<212> DNA

<213> Mycobacterium tuberculosis

<400> 313

agatcaggtt tctcaccac tt

22

<210> 314

<211> 30

<212> DNA

<213> Mycobacterium gallisepticum

---

<400> 314

agaataatct tcccttcag caatggagta

30

<210> 315

<211> 21

<212> DNA

<213> Propionibacterium freudenreichii

<400> 315

gatgaggtt cctgcacagt t

21

<210> 316  
 <211> 22  
 <212> DNA  
 <213> *Rhodococcus erythropolis*

<400> 316  
 agatgagggtt tctcaccccc tc 22

<210> 317  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> *Staphylococcus aureus*

---

<400> 317  
 agatgagatt tcccaacttc 20

<210> 318  
 <211> 22  
 <212> DNA  
 <213> *Streptococcus faecalis*

<400> 318  
 agatgagatt tcccatttct tt 22

<210> 319  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> *Streptomyces ambifaciens*

<400> 319  
 agatgaggac tcccaccccc ttg 23

<210> 320  
 <211> 24  
 <212> DNA  
 <213> *Flavobacterium resinovorum*

<400> 320  
 agatgaggat tccctggcgg cttg 24

---

<210> 321  
 <211> 17  
 <212> DNA  
 <213> *Sphingobacterium multivorans*

<400> 321  
 agatgagact tccttat 17

<210> 322  
 <211> 20  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung *Synechococcus*

<400> 322  
gatgagtact ctcattggcat 20

<210> 323  
<211> 21  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von Arten der Gattung Synechocystis

<400> 323  
gatgagtact ctcattgggtgt t 21

<210> 324  
<211> 16  
<212> DNA  
<213> Borrelia burgdorferi

<400> 324  
agatgagata tccttt 16

<210> 325  
<211> 14  
<212> DNA  
<213> Chlamydia trachomatis

<400> 325  
agataaggta tccc 14

<210> 326  
<211> 32  
<212> DNA  
<213> Pseudomonas stutzeri

<400> 326  
agctccctga agggccgtcg aagactacga cg 32

<210> 327  
<211> 32  
<212> DNA  
<213> Thiobacillus ferrooxidans

<400> 327  
agccccctga agggacgtgg aagactacca cg 32

<210> 328  
<211> 22  
<212> DNA  
<213> Agrobacterium vitis

<400> 328  
agagccgtgg aagacgacca cg 22

<210> 329  
 <211> 22  
 <212> DNA  
 <213> *Adalia bipunctata*

<400> 329  
 agagccgtgg aagaCcacca cg 22

<210> 330  
 <211> 30  
 <212> DNA  
 <213> *Amycolatopsis orientalis*

<400> 330  
 aggggttaag-gtcccagta-gacgactggg 30

<210> 331  
 <211> 22  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattungen *Brucella*, *Bradyrhizobium*

<400> 331  
 agagccgtgg aagaccacca cg 22

<210> 332  
 <211> 30  
 <212> DNA  
 <213> *Pseudomonas paucimobilis*

<400> 332  
 aggaagtaag atccctgaaa gatgatcagg 30

<210> 333  
 <211> 22  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattungen *Rhodobacter*, *Rickettsia*

<400> 333  
 agggccgtgg aagaccacca cg 22

<210> 334  
 <211> 26  
 <212> DNA  
 <213> *Sphingomonas paucimobilis*

<400> 334  
 agctccttga agggtcgttc gagacc 26

<210> 335



<211> 22  
 <212> DNA  
 <213> Zymomonas mobilis

<400> 335  
 agagccgtcg aagactacga cg 22

<210> 336  
 <211> 26  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung Alcaligenes

<400> 336  
 tgtcctctaa agagccgttc gagact 26

<210> 337  
 <211> 25  
 <212> DNA  
 <213> Pseudomonas cepacia

<400> 337  
 tgtgtgagag gccccagcc agacc 25

<210> 338  
 <211> 26  
 <212> DNA  
 <213> Ralstonia pickettii

<400> 338  
 agttccctga agggccgtcg aagact 26

<210> 339  
 <211> 14  
 <212> DNA  
 <213> Campylobacter jejuni

<400> 339  
 agaagactac tagt 14

---

<210> 340  
 <211> 25  
 <212> DNA  
 <213> Helicobacter pylori

<400> 340  
 tgaagctcgc acaaagacta tgtgc 25

<210> 341  
 <211> 28  
 <212> DNA  
 <213> Actinoplanes utahensis

<400> 341

agtgggtaag gctcccagct agactact

28

<210> 342

<211> 31

<212> DNA

<213> Bacillus halodurans

<400> 342

aatccagtaa gaccoccttag agatgatgag g

31

<210> 343

<211> 30

<212> DNA

<213> Bacillus subtilis

<400> 343

aggaagtaag atccoctgaaa gatgatcagg

30

<210> 344

<211> 32

<212> DNA

<213> Clostridium tyrobutyricum

<400> 344

agctggtaag gccoccttgaa gaacacaagg tg

32

<210> 345

<211> 30

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von Arten der Gattung Frankia

<400> 345

cctggtaagg cccocgacta gatgatcggg

30

<210> 346

<211> 30

<212> DNA

<213> Microbispora bispora

<400> 346

accgggtaag gctcccagta gatgactggg

30

<210> 347

<211> 31

<212> DNA

<213> Mycobacterium leprae

<400> 347

gggtgggataa ggccccccgc agaacacggg a

31

<210> 348

<211> 31

<212> DNA  
 <213> Mycobacterium smegmatis

<400> 348  
 ggagggataa ggccccccgc agaccacggg a 31

<210> 349  
 <211> 31  
 <212> DNA  
 <213> Mycobacterium tuberculosis

<400> 349  
 ggtgggataa ggccccccgc agaacacggg t 31

<210> 350  
 <211> 30  
 <212> DNA  
 <213> Propionibacterium freudenreichii

<400> 350  
 aatgtggtaa ggcccccggt agaccaccgg 30

<210> 351  
 <211> 31  
 <212> DNA  
 <213> Rhodococcus erythropolis

<400> 351  
 gagggggtaa ggcccccggc agaccaccgg g 31

<210> 352  
 <211> 29  
 <212> DNA  
 <213> Staphylococcus aureus

<400> 352  
 gggtataaga tccctcaaag atgatgagg 29

<210> 353  
 <211> 31  
 <212> DNA  
 <213> Streptococcus faecalis

<400> 353  
 aagaaagtaa gaccctnan agatgatcag g 31

<210> 354  
 <211> 30  
 <212> DNA  
 <213> Streptomyces ambifaciens

<400> 354  
 aggggttaag gctccagta gacgactggg 30

<210> 355  
 <211> 32

<212> DNA  
 <213> Flavobacterium resinovorum

<400> 355  
 accgccttga agggtcgttc gagaccagga cg 32

<210> 356  
 <211> 22  
 <212> DNA  
 <213> Sphingobacterium multivorans

<400> 356  
 agggtcgtag aagatgacta cg 22

<210> 357  
 <211> 30  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung Synechococcus

<400> 357  
 aagccagtaa ggtcacgggt agaacacccg 30

<210> 358  
 <211> 30  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung Synechocystis

<400> 358  
 aagccagtaa ggtcacggga agactacccg 30

<210> 359  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Borrelia burgdorferi

<400> 359  
 aagggtcctg gaagaataac agg 23

<210> 360  
 <211> 26  
 <212> DNA  
 <213> Chlamydia trachomatis

<400> 360  
 aatgagactc catgtagact acgtgg 26

<210> 361  
 <211> 40  
 <212> DNA

<213> *Pseudomonas stutzeri*

<400> 361  
agtaatgcat taagctaacc agtactaatt gcccgtagcg 40

<210> 362

<211> 40

<212> DNA

<213> *Thiobacillus ferrooxidans*

<400> 362  
agcaatgcgt gcagctaagg agtactaatc gcccgtagcg 40

---

<210> 363

<211> 40

<212> DNA

<213> *Agrobacterium vitis*

<400> 363  
ggtaacctgc gaagcttacc gttactaata gctcgattgg 40

<210> 364

<211> 40

<212> DNA

<213> *Adalia bipunctata*

<400> 364  
agtaatgcgt gtagctaacc gatactaata gctcgattga 40

<210> 365

<211> 40

<212> DNA

<213> *Brucella ovis*

<400> 365  
ggcaacgcat gcagcttacc ggtactaata gctcgatcga 40

<210> 366

<211> 40

<212> DNA

<213> *Bradyrhizobium japonicum*

---

<400> 366  
~~agtaatgcat gcagcttacc ggtactaata gctcgattgg~~ 40

<210> 367

<211> 40

<212> DNA

<213> *Pseudomonas paucimobilis*

<400> 367  
ggcgacacat ggagctgaca gatactaata gatcgaggac 40

<210> 368

<211> 40

<212> DNA

<213> *Rhodobacter sphaeroides*

<400> 368

agcaatgcgt tcagctgact ggtactaatt gcccgatagg 40

<210> 369

<211> 40

<212> DNA

<213> *Rickettsia prowazekii*

<400> 369

agtaatgtgt gtagctaacc gatactaata gctcgattga 40

<210> 370

<211> 40

<212> DNA

<213> *Sphingomonas paucimobilis*

<400> 370

agtaatgcat taagctaacc agtactaatt gcccgtnccg 40

<210> 371

<211> 40

<212> DNA

<213> *Zymomonas mobilis*

<400> 371

ggtaacacat gtagctaact ggtcctaatt gctctattca 40

<210> 372

<211> 40

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von Arten der Gattung *Alcaligenes*

<400> 372

agtgatatgt gaagctgacc aatactaatt gctcgtgagg 40

<210> 373

<211> 40

<212> DNA

<213> *Ralstonia pickettii*

<400> 373

tgtgaggcgt tgagctaacc aatactaatt gcccgtagg 40

<210> 374

<211> 40

<212> DNA

<213> *Campylobacter jejuni*

<400> 374

tgaaagtcct ttagctgacc agtactaata gagcgtttgg 40

<210> 375  
 <211> 40  
 <212> DNA  
 <213> *Helicobacter pylori*

<400> 375  
 agtaatgcgt ttagctgact actactaata gagcgtttgg 40

<210> 376  
 <211> 40  
 <212> DNA  
 <213> *Bacillus halodurans*

<400> 376  
 ggcgacacgt gaagctgaca gatactaata ggctcgaggac 40

<210> 377  
 <211> 40  
 <212> DNA  
 <213> *Bacillus subtilis*

<400> 377  
 ggcgacacat ggagctgaca gatactaata gatcgaggac 40

<210> 378  
 <211> 40  
 <212> DNA  
 <213> *Clostridium tyrobutyricum*

<400> 378  
 ggcaacatgt tcagctgact gatactaata ggccgagggc 40

<210> 379  
 <211> 41  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung Frankia

<400> 379  
 cggtgacgca tggagctgac cggtactaat aggccgaggg c 41

<210> 380  
 <211> 42  
 <212> DNA  
 <213> *Microbispora bispora*

<400> 380  
 cggtaacgtg tggagccgac cggtactaat aagccgagag gc 42

<210> 381  
 <211> 41  
 <212> DNA  
 <213> *Mycobacterium leprae*

<400> 381  
cagtaatgag tgtagggaac tggcactaac tggccgaaag c 41

<210> 382  
<211> 41  
<212> DNA  
<213> *Mycobacterium smegmatis*

<400> 382  
tagtaatagg tgcagggaac tggcactaac cggccgaaaa c 41

---

<210> 383  
<211> 41  
<212> DNA  
<213> *Mycobacterium tuberculosis*

<400> 383  
cagtaatggg tgtagggaac tgggtgctaac cggccgaaaa c 41

<210> 384  
<211> 86  
<212> DNA  
<213> *Mycobacterium gallisepticum*

<400> 384  
agaatcgttg tagactacga cggtgatagg ctaaagggtgt aagtgccgcg aggtatttag 60  
ctgattagta ctaataattc gaggac 86

<210> 385  
<211> 27  
<212> DNA  
<213> *Propionibacterium freudenreichii*

<400> 385  
gctgaccgat actaagtggc cgagggc 27

<210> 386  
<211> 41  
<212> DNA  
<213> *Rhodococcus erythropolis*

---

<400> 386  
cagtaatgca tgcaggtgac tgggtactaat aggccgagga c 41

<210> 387  
<211> 41  
<212> DNA  
<213> *Rhodococcus fascians*

<400> 387  
cagcaatgta tgcaggtgac tgggtactaat aggccgagga c 41

<210> 388  
<211> 27  
<212> DNA



<213> *Staphylococcus aureus*

<400> 388

gctgacgaat actaatcgat cgagggc

27

<210> 389

<211> 27

<212> DNA

<213> *Streptococcus faecalis*

<400> 389

gcggaccaat actaatcggc cgaggac

27

<210> 390

<211> 51

<212> DNA

<213> *Streptomyces ambifaciens*

<400> 390

ccgcaaggtg tggaggtgac cggactaat aggccgaggg cttgtcctca t

51

<210> 391

<211> 51

<212> DNA

<213> *Streptomyces galbus*

<400> 391

cggtaacgtg tggaggtgac cggactaat aggccgaggg cttgtcctca g

51

<210> 392

<211> 51

<212> DNA

<213> *Streptomyces griseus*

<400> 392

cggtaacggg tggagctgac tggactaat aggccgaggg cttgtcctca g

51

<210> 393

<211> 51

<212> DNA

<213> *Streptomyces lividans*

<400> 393

ccgtgaggtg tggaggtgac cggactaat aggccgaggg cttgtcctca g

51

<210> 394

<211> 51

<212> DNA

<213> *Streptomyces mashuensis*

<400> 394

cggtaacggt tggagctgac tggactaat aggccgaggg cttgtccata' g

51

<210> 395

<211> 28

<212> DNA

<213> Flavobacterium resinovorum

<400> 395

gctaaccagt actaattgcc cgtaaggc

28

<210> 396

<211> 28

<212> DNA

<213> Sphingobacterium multivorans

<400> 396

gccaaagtggg actaatagcc cgaagctt

28

<210> 397

<211> 27

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von Arten der Gattung Synechococcus

<400> 397

gctgaggcgt actaatagac cgagggc

27

<210> 398

<211> 27

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von Arten der Gattung Synechocystis

<400> 398

gtcgaggagt actaatagac cgagggc

27

<210> 399

<211> 27

<212> DNA

<213> Borfelia burgdorferi

<400> 399

gctgactaat actaattacc cgtatct

27

<210> 400

<211> 28

<212> DNA

<213> Chlamydia trachomatis

<400> 400

gctaaccaat actaataagt ccaaagac

28

<210> 401

<211> 36

<212> DNA

<213> Salmonella typhi

<400> 401  
 cttaacctta caacgccgaa gatgttttgg cggatg 36

<210> 402  
 <211> 35  
 <212> DNA  
 <213> Buchnera aphidocola

<400> 402  
 cttaacctta caacaccaga ggtgtttttt ataaa 35

---

<210> 403  
 <211> 35  
 <212> DNA  
 <213> Pseudomonas stutzeri

<400> 403  
 cttgaccata taacacccaa acaatttgat gtttg 35

<210> 404  
 <211> 35  
 <212> DNA  
 <213> Thiobacillus ferrooxidans

<400> 404  
 cttgaccata tatcaccaag cattaaagag cttcc 35

<210> 405  
 <211> 35  
 <212> DNA  
 <213> Sphingomonas paucimobilis

<400> 405  
 cttgtcccta taaccttggt agtccaaggt cgagt 35

<210> 406  
 <211> 35  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung Alcaligenes

---

<400> 406  
 cttgactata caacacccaa gcagttgtat ataaa 35

<210> 407  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Pseudomonas cepacia

<400> 407  
 aggactaacg actcgtgaag ctg 23

<210> 408  
 <211> 29  
 <212> DNA  
 <213> *Ralstonia pickettii*

<400> 408  
 cttgaccata taacacccaa gcaatttga 29

<210> 409  
 <211> 35  
 <212> DNA  
 <213> *Campylobacter jejuni*

<400> 409  
 cttatcttta ataaagcatc acttccttgt taagg 35

<210> 410  
 <211> 35  
 <212> DNA  
 <213> *Helicobacter pylori*

<400> 410  
 cttgtttttt gctttttgat aagataacgg caata 35

<210> 411  
 <211> 33  
 <212> DNA  
 <213> *Actinoplanes utahensis*

<400> 411  
 cggtaacgtg ttgagttgac cggtaactaat agg 33

<210> 412  
 <211> 35  
 <212> DNA  
 <213> *Bacillus halodurans*

<400> 412  
 ttatccaaaa acaaatcaaa agcaacgtct cgaac 35

<210> 413  
 <211> 21  
 <212> DNA  
 <213> *Bacillus subtilis*

<400> 413  
 ttaaccacat tttgaatgat g 21

<210> 414  
 <211> 32  
 <212> DNA  
 <213> *Clostridium tyrobutyricum*

<400> 414  
 ttgaccaaatt ttatcttact gtgcaatttt ca 32

<210> 415  
 <211> 56  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung Frankia

<400> 415  
 cggtagcgca tggagctgac cggtagtaaat aggcgagagg cttgtcttcg aaggtag 56

<210> 416  
 <211> 56  
 <212> DNA  
 <213> Microbispora bispora

<400> 416  
 cggtaacgtg tggagccgac cggtagtaaat aagccgagag gcttgacttc acatgc 56

<210> 417  
 <211> 56  
 <212> DNA  
 <213> Mycobacterium leprae

<400> 417  
 cagtaatgag tgtagggaac tggcactaac tggccgaaag cttacaaaac acacac 56

<210> 418  
 <211> 56  
 <212> DNA  
 <213> Mycobacterium smegmatis

<400> 418  
 tagtaatagg tgcaggggaac tggcactaac cggccgaaaa cttacaacac cccata 56

<210> 419  
 <211> 56  
 <212> DNA  
 <213> Mycobacterium tuberculosis

<400> 419  
 cagtaatggg tgtagggaac tggtagtaaac cggccgaaaa cttacaacac cctccc 56

---

<210> 420  
 <211> 39  
 <212> DNA  
 <213> Mycobacterium gallisepticum

<400> 420  
 cgtagtagg ctaaaggtag aagtgccgag aggtattta 39

<210> 421  
 <211> 39  
 <212> DNA  
 <213> Propionibacterium freudenreichii

<400> 421  
 ttgtcccaca ctttaattct tgtagattgt tgtgaagag 39

<210> 422  
 <211> 41  
 <212> DNA  
 <213> *Rhodococcus erythropolis*

<400> 422  
 cagtaatgca tgcaggtgac tggactaat aggccgagga c 41

<210> 423  
 <211> 41  
 <212> DNA  
 <213> *Rhodococcus fascians*

<400> 423  
 cagcaatgta tgcaggtgac tggactaat aggccgagga c 41

<210> 424  
 <211> 33  
 <212> DNA  
 <213> *Staphylococcus aureus*

<400> 424  
 ttaaccaaaa taaatgtttt gcgaagcaaa atc 33

<210> 425  
 <211> 42  
 <212> DNA  
 <213> *Streptococcus faecalis*

<400> 425  
 ttaaccaaag aatggataag taaaagcaac ttggttattt tg 42

<210> 426  
 <211> 56  
 <212> DNA  
 <213> *Streptomyces lividans*

<400> 426  
 ccgcaagggtg tggaggtgac cggactaat aggccgaggg cttgtcctca tttgct 56

---

<210> 427  
 <211> 56  
 <212> DNA  
 <213> *Streptomyces mashuensis*

<400> 427  
 cggtaacggt tggagctgac tggactaat aggccgaggg cttgtccata gttgct 56

<210> 428  
 <211> 43  
 <212> DNA  
 <213> *Flavobacterium resinovorum*

<400> 428  
cttgatccta taaccagtgt gttttgcctg gtgggtgatc gcg 43

<210> 429  
<211> 28  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von Arten der Gattung Synechococcus

<400> 429  
ttgacctcta acactttgat atcggcac 28

---

<210> 430  
<211> 28  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von Arten der Gattung Synechocystis

<400> 430  
ttgacctta ttcttcattt ttctttct 28

<210> 431  
<211> 34  
<212> DNA  
<213> Chlamydia trachomatis

<400> 431  
cttggtcttt ttatgattgg aagagccgaa aggc 34

<210> 432  
<211> 51  
<212> DNA  
<213> Salmonella typhi

<400> 432  
cttaacctta caacaccgaa ggtgttttgg aggataaaag aaacagaatt t 51

---

<210> 433  
<211> 117  
<212> DNA  
<213> Buchnera aphidocola

<400> 433  
cttaacctta caacaccaga ggtgtttttt ataaaaata aaaaatcttg ttttactgaa 60  
tttattgttg tattaatata tatatattat aatagcacta aaaaatgcct ggtaaaa 117

<210> 434  
<211> 233  
<212> DNA  
<213> Pseudomonas stutzeri

<400> 434  
 cttgaccata taacacccaa acaatttgat gtttgctgt cagacggttg aagtcgacaa 60  
 acaaaccgaa agacgcaacg ctgcgaaagc gaaagcgata ccgaagcaac catcacatac 120  
 ccaattaggg aagcgactca acaccgactc cccagttgaa cttgcttgac gaccatagag 180  
 cgttggaacc acctgatccc atcccgaact cagtagtgaa acgacgcata gcc 233

<210> 435  
 <211> 91  
 <212> DNA  
 <213> *Thiobacillus ferrooxidans*

<400> 435  
 cttgaccata tatcaccaag cattaaagag cttcccttca gcaacacctc gagggcggca 60  
 cagccgcgcc cgggaccaga ccagttttaa c 91

<210> 436  
 <211> 230  
 <212> DNA  
 <213> *Agrobacterium vitis*

<400> 436  
 cttaatcggt ctcattgacc atgctcatcg acttcgctga tgagccatct gtttagcgct 60  
 cagcatgag cggctcgat acgagcctat gtcgcgcgag ggcgcggaac gatcggcgac 120  
 ggcgcttgcg cttgcggact tcgtccgaaa gtgccaagca aaacgctcgcg gaatgacgtg 180  
 ttcacacaat aagaaaacgg gcaatgcccg ccagcttctc atcaacattg 230

<210> 437  
 <211> 162  
 <212> DNA  
 <213> *Adalia bipunctata*

<400> 437  
 tttaactttgc tgtgagatta cacatgcata tgggtgtta tctataaaca tgtaagtatc 60  
 aactcacaaa gttatcaggt taaattagct ttatcaacca ataaagatgt tgttacatgt 120  
 ctctttctat gttgttctg tgaaagtaag aatctagaaa aa 162

<210> 438  
 <211> 120  
 <212> DNA  
 <213> *Amycolatopsis orientalis*

<400> 438  
 tggtaacggg tggagttgac tggactaat aggccgagg cttgtcctca gttgctcgcg 60  
 tccactgtgt tagttctgaa gtaacgaaca tcgcctgtgc ggctggagtt caacttcata 120

<210> 439  
 <211> 189  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung *Brucella*

<400> 439  
 cttgatcact cccatttaca atatccatca agcaaaagct tgatgttgaa ggcaatatgg 60  
 aagtagggca ataaggcaat atgtttgccc aaagccctca accatcgcca cgcagaaaaa 120  
 caaagcacia aggcaaagaa caggcgcgac ccaaacatac tgccctattc ccctaattgc 180



ttaagcccc

189

&lt;210&gt; 440

&lt;211&gt; 109

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Bradyrhizobium japonicum

&lt;400&gt; 440

cttgattgct ctcattttca gtgtccatag ggccgcaagg cccgcgacca gaatgaaatg 60  
 agaggcgcta gtcgccaac aaagatcgct tgcttcgtat tccttgctc 109

&lt;210&gt; 441

&lt;211&gt; 125

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Pseudomonas paucimobilis

&lt;400&gt; 441

cttaaccaat ttgaatgtat gcttactggt atctagtttt gagagaacac tctcaatggt 60  
 ttggtggcga tagcgaagag gtcacaccg ttcccatgcc gaacacggaa gttaagctct 120  
 tcagc 125

&lt;210&gt; 442

&lt;211&gt; 100

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Rhodobacter sphaeroides

&lt;400&gt; 442

cttgatctga cccggttaaca gcaaggctca aaagccaacg ctctacccca gatcagaagc 60  
 aatagaccgg gaacaagcaa aagcctgatg ttgtcgtttc 100

&lt;210&gt; 443

&lt;211&gt; 196

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Rickettsia prowazekii

&lt;400&gt; 443

tttactttgc tgtgagatta tatatgcata tagtggttaat tatataagta ttttaagcatc 60  
 aatttgtaaa ttataatttt aatgttaaat tagctttatc aataaataaa aatgttattc 120  
 tatcgtttta tggtacgatt tgatagtaaa gttttgatct ttctttaaga tattgtagac 180  
 aattgtatat tatacc 196

&lt;210&gt; 444

&lt;211&gt; 249

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Pseudomonas cepacia

&lt;400&gt; 444

aggactaacg actcgtgaag ctgaccggta ctaataggcc gataacttac accacacacc 60  
 cttttcgtga acggattcaa aagacgttca caccaggaga gggtaaaaag aaaaaacaag 120  
 actgcttgcg tccactatgt ggttcccaac caacaaacc gccacgggca cgttgcgaca 180  
 ggaacacaac tgaataacaa caccacaatg ttgtaaccac aaagacttcc caccgccggc 240  
 atcagacc 249

&lt;210&gt; 445

&lt;211&gt; 209

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Ralstonia pickettii

<400> 445  
 cttgaccata taacacccaa gcaatttgag cgtagggcgcc aaattgtggt ggtgaagatg 60  
 atacgaaccg aaagtctgca acgaaccaca acatcacata tccgaattcg ctgggctgtc 120  
 catctggaca ttctggctac agaatttctt gacgaccata gagcattgga accacctgat 180  
 cccatcccga actcagcagt gnaacgatg 209

<210> 446  
 <211> 271  
 <212> DNA  
 <213> *Campylobacter jejuni*

<400> 446  
 cttatcttta ataaagcatc acttccttgt taagggttttt aagaagactt tgaatataga 60  
 taatatttag agtttaatag aaatctttca agtaaagttt gtattagaac ttgctcttaa 120  
 cattgttttt taagtattct atataaaaaac ttatcaaaga taaaagataa gaaaagaaga 180  
 aagagaataa aagattaagt tttattctta aattcaattt ttcaaagaat atttaaataa 240  
 caatgtccgt gattatacag atgtggaaac g 271

<210> 447  
 <211> 228  
 <212> DNA  
 <213> *Helicobacter pylori*

<400> 447  
 cttgtttttt gctttttgat aagataacgg caataagcgc gaatgggtta ccactgcctt 60  
 actgagtgtg agagagttgg agttttatga agacttttat aagattaaac tttaatgagg 120  
 aatgagatac catctcaatg gtttaaagtt aaaggctatt aacgatcttc tttgttaaaa 180  
 acagctcccc tataaagaga aaggggagtt aagggtaaat gcgttttt 228

<210> 448  
 <211> 155  
 <212> DNA  
 <213> *Actinoplanes utahensis*

<400> 448  
 cggtaacgtg ttgagttgac cggtactaat aggccgaggg cttaaccacc cttaaattttc 60  
 tgcttgctgc cactgtgtga ttcacagcaa acgaacaacc accccgggtc aagagtgccg 120  
 ggttgctggt ttgttctgct gatggctggt tcgat 155

<210> 449  
 <211> 296  
 <212> DNA  
 <213> *Bacillus halodurans*

<400> 449  
 cttatccaaa aacaaatcaa aagcaacgtc tcgaactcga gaagcgtccc attatctagt 60  
 tttgagagaa tcttgttctc caaagaagcg ctccgacgca gcatcgcaag atgcgaagtt 120  
 gatcggaagc cgtgatcaag agattattct cttagggtcca aagaaaaggg tttcgagaaa 180  
 cgagcagttt taggaatcga gcgacgacag atcgagcgt acacacggta cgtgaggatc 240  
 tggaggagtg aagatgacac caaaatgcga tgttgatcgg aggccgtaac tatcta 296

<210> 450  
 <211> 122  
 <212> DNA  
 <213> *Bacillus halodurans*

<400> 450

cttaaccaca ttttgaatga tgtcacacct gttatctagt tttgagagaa cacctctcta 60  
 aaggcggaag gtaaggaaac tccgctaagg gctctcacat cctgtgagaa acgcccagta 120  
 cc 122

<210> 451  
 <211> 209  
 <212> DNA  
 <213> Clostridium tyrobutyricum

<400> 451  
 cttgaccaa tttatcttac tgtgcaattt tcagagaata attattctct tatctccatt 60  
 agaaatataa tgtttctatt ttattataga gaataaagta agtaaattga taataaccat 120  
 tagtacaagg aagatatgag cgaagagcgg aatttactta ggtaaattgag cactggagtg 180  
 aataattctg acggtgtaat gagaagtta 209

---

<210> 452  
 <211> 100  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung Frankia

<400> 452  
 cggtagcga tggagctgac cggactaat aggccgaggg cttgtcttcg aagggtgctac 60  
 gcgtccactg tgcggttctc ggggtgtacgg ccggttcggc 100

<210> 453  
 <211> 85  
 <212> DNA  
 <213> Microbispora bispore

<400> 453  
 cggtaacgtg tggagccgac cggactaat aagccgagag gcttgacttc acatgcacgc 60  
 accactatg cgattctcga tcagc 85

<210> 454  
 <211> 124  
 <212> DNA  
 <213> Mycobacterium leprae

<400> 454  
 cagtaatgag tgtagggaac tggcactaac tggccgaaa cttacaaaac acacacatcg 60  
~~caaccacata attcagatcc aatttctcgt ggagcatcac acccccatc agaacaatt~~ 120  
 tttta 124

---

<210> 455  
 <211> 146  
 <212> DNA  
 <213> Mycobacterium smegmatis

<400> 455  
 tagtaatagg tgcagggaac tggcactaac cggccgaaaa cttacaacac ccataatcg 60  
 ttgtaagaag aaaaattga cgcaccgcgc tcgcaaccac actccacgga tgatcaaacc 120  
 cacaagtttg ctctccatgt ggtca 146

<210> 456  
 <211> 135  
 <212> DNA  
 <213> *Mycobacterium tuberculosis*

<400> 456  
 cagtaatggg tgtaggggaac tgggtgctaac cggccgaaaa cttacaacac cctccctttt 60  
 ggaaaaggga ggcaaaaaca aaatcgcaac cacatccgtt cacggcgcta gccgtgcgtc 120  
 cacaccccc accag 135

<210> 457  
 <211> 169  
 <212> DNA  
 <213> *Mycobacterium gallisepticum*

<400> 457  
 cgttgatagg ctaaagggtgt aagtgccgcg aggtatttag ctgattagta ctaataattc 60  
 gaggacttag atttgatcaa aaacattagc tgttttttat ctaatatgat ttgttgattt 120  
 ttgtttttca aagagcaatg tgtgtgatat cgatatcgtg atggaaaca 169

<210> 458  
 <211> 43  
 <212> DNA  
 <213> *Propionibacterium freudenreichii*

<400> 458  
 cttgtccac actttaattc ttgtagattg ttgtgaagag ttt 43

<210> 459  
 <211> 182  
 <212> DNA  
 <213> *Rhodococcus erythropolis*

<400> 459  
 cagtaatgca tgcaggtgac tggactaat aggccgagga cttaccacaa agaagctacg 60  
 cgtccactgt gcggtatctg aaacaacaca cagatactga tgagaaaccc tgttttctcc 120  
 atcccccaac accagaaact ggtgttgacg tggtgaaacc agtgatcag aagaaggta 180  
 ct 182

<210> 460  
 <211> 168  
 <212> DNA  
 <213> *Rhodococcus fascians*

<400> 460  
 cagcaatgta tgcaggtgac tggactaat aggccgagga cttaccacaa agaagctacg 60  
 cgtccactgt gcaatatctg aaacaacaca cgagtagttg ttcgacaaca gaaccgaata 120  
 cacgaatccg ccaccacac gagtgtgggt gacaggttcg ctcgttga 168

<210> 461  
 <211> 64  
 <212> DNA  
 <213> *Staphylococcus aureus*

<400> 461  
 cttaacaaa ataatgttt tgcgaagcaa aatcactttt acttactatc tagttttgaa 60  
 tgta 64

<210> 462  
 <211> 87  
 <212> DNA  
 <213> *Streptococcus faecalis*

<400> 462  
 cttacacaaa gaatggataa gtaaaagcaa cttggttatt ttgattcaaa cttcaatcca 60  
 gttttgagt aatnaagatt cncctcaa 87

<210> 463  
 <211> 123  
 <212> DNA  
 <213> *Streptomyces ambifaciens*

<400> 463  
 ccgcaaggtg tggaggtgac cggactaat aggccgaggg cttgtcctca tttgctcgcg 60  
 tccactgtgt tggttctgaa accacgaaca accccatgtg ccacacatgg tgcggttgtc 120  
 agt 134

<210> 464  
 <211> 134  
 <212> DNA  
 <213> *Streptomyces galbus*

<400> 464  
 ccgtaacgtg tggaggtgac cggactaat aggccgaggg cttgtcctca gttgctcgcg 60  
 tccactgtgt tggttctgaa accacgaaca gccccatgct ctggcatggt gcggcattgt 120  
 tcgacagttt cata 134

<210> 465  
 <211> 143  
 <212> DNA  
 <213> *Streptomyces griseus*

<400> 465  
 ccgtaacggg tggagctgac tggactaat aggccgaggg cttgtcctca gttgctcgcg 60  
 tccactgtgt tgttcccggg ttgcgaacag ttatcgaccc ggttgaacag tttcactact 120  
 taattgaaga gtgtgcttgt tcg 143

<210> 466  
 <211> 137  
 <212> DNA  
 <213> *Streptomyces lividans*

<400> 466  
 ccgtgaggtg tggaggtgac cggactaat aggccgaggg cttgtcctca gttgctcgcg 60  
 tccactgtgt tagttctgag gcaacgaccg ttgccggatt tgagtagaac gcacaattaa 120  
 agagtgtgct tgttcgc 137

<210> 467  
 <211> 135  
 <212> DNA  
 <213> *Streptomyces mashuensis*

<400> 467  
 ccgtaacggt tggagctgac tggactaat aggccgaggg cttgtccata gttgctcgcg 60  
 ttcactgtgt tggttctgaa acaacaacca agaagcatac gccgtgtgtg gttgacagtt 120

tcatagtgtt tcggt

135

<210> 468  
 <211> 114  
 <212> DNA  
 <213> Flavobacterium resinovorum

<400> 468  
 cttgataccta taaccagtgt gttttgcctg gtgggtgatc gcgactgtgc cgaaacagtt 60  
 gacacgcaca accccaacta catccctatt cgcagcgttg acctcaacct cagc 114

<210> 469  
 <211> 126  
 <212> DNA  
 <213> Sphingobacterium multivorans

<400> 469  
 ctttctcaag cagataacac tggtgtcttc ctctttaatt tttagaaacg aaaagaataa 60  
 caaaaaagaa acgaagctct ttcaatagat atgtcagttg gcctgacgat gatataattat 120  
 cataag 126

<210> 470  
 <211> 63  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung Synechococcus

<400> 470  
 cttgacctct aacactttga tatcggcact ctctcttatg cagccttcaa ggctctaatac 60  
 tcc 63

<210> 471  
 <211> 67  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung Synechocystis

<400> 471  
 cttgaccttt attcttcatt tttctttctc ttttcttgtg cagtcttctg ggtttcttct 60  
 cagcaaa 67

---

<210> 472  
 <211> 17  
 <212> DNA  
 <213> Borrelia burgdorferi

<400> 472  
 ctttgccat atttttg 17

<210> 473  
 <211> 111

<212> DNA

<213> *Chlamydia trachomatis*

<400> 473

cttgggtcttt ttatgattgg aagagccgaa aggcaaagac aataagaaaa agagtagaga 60  
gtgcaagtac gtagaagaca agcttttaag cgtctattag tatacgtgag a 111

<210> 474

<211> 148

<212> DNA

<213> *Azotobacter vinelandii*

<400> 474

aaacaatctg ttgcagcccc cagcggggcg gcacggagag ggcgagccg acaggccgaa 60  
gatttggtcg gaccgcacgc tgccggaac aggctaccgc tatcacctac ccgattggct 120  
gtcgtgtcat cgacacggcg gcaaccga 148

<210> 475

<211> 229

<212> DNA

<213> *Cowduria ruminantium*

<400> 475

ggtgtgtaag tatggttaaca tatgtagcta accagtacta atagcccgat tgatttactt 60  
aatttgtaat tataatgtagt attaaaactg cagcttgcct ttttgcttat tttgttttat 120  
agtttaattg ggttggtggt aatagcagaa gtgatacacc cagctacatt tcgaacctgg 180  
aagttaagcc ttctagcgct tatggtactt tgtcttaagg cacgggaga 229

<210> 476

<211> 110

<212> DNA

<213> *Mycobacterium intracellulare*

<400> 476

taagcttgat tcacacactc gcaaccacag tccatttcgc gcgttctgcc gctgaagcta 60  
gaacaccgca cccccacca aacaaattta aatagagtta cggcggccac 110

<210> 477

<211> 107

<212> DNA

<213> *Mycobacterium lufu*

<400> 477

aaaacttacc gaacacacaa tcgcaaccac agtccatttc acggcagcaa tgccgcgaaa 60  
~~cgcacacccc cccaccaaac aaatttaaat agagttacgg cggccac 107~~

<210> 478

<211> 120

<212> DNA

<213> *Mycobacterium simiae*

<400> 478

taagcttgat tcacacacat cgcaaccact atcgtcgcga cttattgtcg cgccgaatgc 60  
cacaccccc accagaacaa ctaataaaat agtgttccgt aatagagtta cggcggccac 120

<210> 479

<211> 149

<212> DNA

<213> *Mycobacterium smegmatis*

<400> 479

caccccataa cgttgtaaga agaaaacatt gaccaccgcg ctcgcaacca cactccacgg 60  
atgatcaaac cgatcaccac accaccaaaa caaacccaca agtttgctct ccatgtgggt 120  
caccacataa gagaatagag ttacggcgg 149

<210> 480

<211> 75

<212> DNA

<213> *Saccharomonospora azurea*

<400> 480

caaagatgct acgcaccac tctgcaactc tgaaacacca caccgccgaa acatgatcct 60  
gggttgtttc acagt 75

<210> 481

<211> 73

<212> DNA

<213> *Saccharomonospora caesia*

<400> 481

caaagatgct acgcaccac tctgcaactc tgaaacacca caccgccgaa acgatcctgg 60  
gttgtttcac agt 73

<210> 482

<211> 75

<212> DNA

<213> *Saccharomonospora cyanea*

<400> 482

caaacatgct acgcaccac tctgcaactc tgaaacacca ccccggaac acaccggcg 60  
tgattgtttc ccaga 75

<210> 483

<211> 69

<212> DNA

<213> *Saccharomonospora glauca*

<400> 483

caaagacgct acgcaccac tctgcgactc tgaaacacca ccctggtgtg ccagtgggtg 60  
tttcacaga 69

<210> 484

<211> 74

<212> DNA

<213> *Saccharomonospora viridis*

<400> 484

caaaggtgct acgcaccac tctgcaactc tgaaacacca cacccccaca acaccggggt 60  
ggttgtttca caga 74

<210> 485

<211> 304

<212> DNA

<213> *Wolbachia pipientis*



<400> 485  
 taactggtac taatagcctg attgatttat ttgctttcta tatgtgcata tgcagtggtta 60  
 aatatttaagt taaaatttat taagtcagaa atttttgttg acttggtggc tatagcaaaa 120  
 atgaaccacc cgatctcatt tcgaactcgg aagtgaact ttttagcgcc gatgatactt 180  
 aaaaacccaa agtaggtcgt tgccaagttt ataaaaattt cttcttattt atatcttttc 240  
 agtagagcga tgaacaagg taaacataga gttagctgtga ggtaataataa ctgatctttt 300  
 agaa 304

<210> 486  
 <211> 34  
 <212> DNA  
 <213> *Salmonella typhi*

---

<400> 486  
 ttcctggcgg cactagcgcg gtggtccac ctga 34

<210> 487  
 <211> 22  
 <212> DNA  
 <213> *Buchnera aphidicola*

<400> 487  
 atagtgtagt ggtaccacct ga 22

<210> 488  
 <211> 53  
 <212> DNA  
 <213> *Pseudomonas stutzeri*

<400> 488  
 catcgccgat ggtagctgtg gggctctccc atgtgagagt aggtcatcgt caa 53

<210> 489  
 <211> 35  
 <212> DNA  
 <213> *Thiobacillus ferrooxidans*

<400> 489  
 cttgtctggc ggccatagcg cagtgggaacc acccc 35

<210> 490  
 <211> 52  
 <212> DNA  
 <213> *Agrobacterium vitis*

---

<400> 490  
 atcaacattg cccttagctg acctggtggt catggcgggg cggccgcacc cg 52

<210> 491  
 <211> 38  
 <212> DNA  
 <213> *Adalia bipunctata*

<400> 491  
 gccatgcaac aatgttaaca gcagactaat acaaactct 38

<210> 492  
 <211> 52  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung Brucella

<400> 492  
 atgtttgtgt tcttcgccga cctggtggtt atggcggagc ggccgcaccc ga 52

<210> 493  
 <211> 40  
 <212> DNA  
 <213> Bradyrhizobium japonicum

<400> 493  
 ttcgccggcc tgggtggtttt agcgaagagc ctcaaccga 40

<210> 494  
 <211> 36  
 <212> DNA  
 <213> Pseudomonas paucimobilis

<400> 494  
 tcttcagcgc cgatggtagt cggggttccc cctaatt 36

<210> 495  
 <211> 40  
 <212> DNA  
 <213> Rhodobacter sphaeroides

<400> 495  
 ttctccggtc tgggtggccat agcacgagca aaacaccga 40

<210> 496  
 <211> 53  
 <212> DNA  
 <213> Rickettsia prowazekii

<400> 496  
 ccttgcttaa gaataatata atagcattaa cagcatatta taatacaacc tat 53

<210> 497  
 <211> 51  
 <212> DNA  
 <213> Rickettsia bellii

<400> 497  
 aaatttcttt aagtcttgca acaacactaa cagcaaacca atacaaatct a 51

<210> 498  
 <211> 53  
 <212> DNA  
 <213> Rickettsia rickettsii

<400> 498  
gaatttttttt gagtcgtgca acaacattaa cagtagacta taatacaaat cta 53

<210> 499  
<211> 47  
<212> DNA  
<213> *Sphingomonas paucimobilis*

<400> 499  
gccagacaag tcaaagcctg atgaccatag caagtcggtc ccacccc 47

<210> 500  
<211> 33  
<212> DNA  
<213> *Zymomonas mobilis*

<400> 500  
cttggtggc tatagcgtca gtgaccacc cga 33

<210> 501  
<211> 53  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von Arten der Gattung *Alcaligenes*

<400> 501  
gcaagtatcc ataccagttg tgctggcgac catagcaaga gtgaaccacc tga 53

<210> 502  
<211> 51  
<212> DNA  
<213> *Pseudomonas cepacia*

<400> 502  
cgggcggacg ggtacaaggg ttacggcggc catagcgtgg gggaaacgcc c 51

<210> 503  
<211> 48  
<212> DNA  
<213> *Ralstonia pickettii*

<400> 503  
catcgccgat ggtagtgtgg gggtttcccca tgcgagagta ggacatag 48

<210> 504  
<211> 51  
<212> DNA  
<213> *Helicobacter pylori*

<400> 504  
ttatcttttag ctcccttttc cttgtgcctt tagagaagag gaactaccca g 51

<210> 505  
 <211> 52  
 <212> DNA  
 <213> *Bacillus halodurans*

<400> 505  
 caaagaggat caagagattt gcggaagcaa gcgagtgcg aactgagcgt at 52

<210> 506  
 <211> 52  
 <212> DNA  
 <213> *Bacillus halodurans*

<400> 506  
 ccttcacct gaaggcattt gtttggtggc gatagcgaag aggtcacacc cg 52

<210> 507  
 <211> 52  
 <212> DNA  
 <213> *Clostridium tyrobutyricum*

<400> 507  
 ttagcagcaa ttacggttg atctggtaac aatgacgtga aggtaacact cc 52

<210> 508  
 <211> 51  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung *Frankia*

<400> 508  
 gggtgtatag ttgaatagtg tttcgggtgt tttggcgaag gggaaacgcc c 51

<210> 509  
 <211> 50  
 <212> DNA  
 <213> *Microbispora bispora*

<400> 509  
 gtcctcacct gaaggcttgc cgctatcccg cgtcgagcag gtgaattccg 50

<210> 510  
 <211> 45  
 <212> DNA  
 <213> *Mycobacterium leprae*

<400> 510  
 aattttatag agttacggtg gccacagcga tagggaaacg cccgg 45

<210> 511  
 <211> 52  
 <212> DNA  
 <213> *Mycobacterium smegmatis*

<400> 511  
accacataag agaataagat tacggcggtc catagcggca gggaaacgcc cg 52

<210> 512  
<211> 49  
<212> DNA  
<213> Mycobacterium tuberculosis

<400> 512  
agaacaaatt tgcataagat tacggcggcc acagcggcag ggaaacgcc 49

<210> 513  
<211> 51  
<212> DNA  
<213> Rhodococcus erythropolis

<400> 513  
tgtgacagt ttcataagat tacggcggtc atagcgaagg ggaaacgccc g 51

<210> 514  
<211> 52  
<212> DNA  
<213> Rhodococcus fascians

<400> 514  
ttgacactgt ttcgcagat tacggcggcc atagcggagg ggaaacgcc cg 52

<210> 515  
<211> 53  
<212> DNA  
<213> Staphylococcus aureus

<400> 515  
tgtataaatt acattcatat gtctggtgac tatagcaagg aggtcacacc tgt 53

<210> 516  
<211> 50  
<212> DNA  
<213> Streptococcus faecalis

<400> 516  
taagaaacaa caccagtggt ggtggcgata gcgagaagga tacacctgtt 50

<210> 517  
<211> 47  
<212> DNA  
<213> Streptomyces ambifaciens

<400> 517  
tcagtttcat agtgtttcgg tggtcatagc gttagggaaa cgcccg 47

<210> 518  
<211> 53  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von Arten der Gattung Streptomyces

<400> 518

ttcgctagaa cccgataggg ttctcggtggt cattgcgtta gggaaacgcc cgg 53

<210> 519

<211> 47

<212> DNA

<213> Flavobacterium resinovorum

<400> 519

gctgcaaccc ctcatgcctg gtgaccatag cgagctggaa ccacccc 47

<210> 520

<211> 52

<212> DNA

<213> Spingobacterium multivorans

<400> 520

taagacagac caataaagat ttttaggtgc ctatatcggc ggtgtctacc tc 52

<210> 521

<211> 53

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von Arten der Gattung Synechococcus

<400> 521

ccatagagtc acacccttcc tgggtgtctat ggcgggtatgg aaccactctg acc 53

<210> 522

<211> 60

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
von Arten der Gattung Synechocystis

<400> 522

agcaaaaccc aaaaatcttt cttaggtgtct ttagcgatcat ggaaccactc cgatcccatc 60

<210> 523

<211> 53

<212> DNA

<213> Borrelia burgdorferi

<400> 523

ttttgtcttc cttgtaaaaa ccctgggtggt taaagaaaag aggaaacacc tgt 53

<210> 524

<211> 51

<212> DNA  
 <213> Chlamydia trachomatis

<400> 524  
 gagaaacgat gccaggatta gcttgggtgat aatagagaga gggaaacacc t 51

<210> 525  
 <211> 138  
 <212> DNA  
 <213> Sphingomonas paucimobilis

<400> 525  
 ctataacctt ggtagtccaa ggctcagtag aactgctcga tacaagctac aaccaacaa 60  
 tacttcttcc agattcatgg ccacgctgaa caaagcgtag ggtgggcggc tgnccgcc 120  
 acgcgtaact caagcgta 138

---

<210> 526  
 <211> 107  
 <212> DNA  
 <213> Zymomonas mobilis

<400> 526  
 ttttgagaac tccactgtca atgtcagcat tgctgacctg ataatgtttt ctcttagctc 60  
 ttttgaatat cttcgatttt caattaactt caccgacagg tgtcata 107

<210> 527  
 <211> 167  
 <212> DNA  
 <213> Künstliche Sequenz

<220>  
 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: abgeleitet  
 von Arten der Gattung Alcaligenes

<400> 527  
 atacaacacc caagcagttg tatataaagc atcaatcgat tcattaatat gcaaagcaac 60  
 ttgatttagt tatacgctta gctaaaatga acaaaatata gtaagactca atcagcccat 120  
 ttgtaaagat ttggaaaacg catcggcaac caataagacc aatgcaa 167

<210> 528  
 <211> 225  
 <212> DNA  
 <213> Borrelia burgdorferi

<400> 528  
 ctgcgagttc gcgggagagt aagttattgc cagggttttt tatttttttt tagtttttat 60  
 gttattttaa tggcttattc aaacaacata aaaaagaaaa tagatattga catggattaa 120  
 acaaaagata tatattattc tatgttgcac aaacaaattg gcaaagtaga gatggaagat 180  
 aaaaatatgg tcaaagtaat aagagtctat ggtgaatgcc tagga 225

<210> 529  
 <211> 681  
 <212> DNA  
 <213> Xanthomonas campestris

<400> 529  
 tggagcaaga cgtcattcgt cctagtcggg cgtcctcaca aattacctgc attcagagat 60  
 tcataccggc acaggtcggg atgcgaagtc ccttttgggg ccttagctca gctgggagag 120

```

cacctgcttt gcaagcaggg ggtcgtcggg tcgatcccga caggctccac catattgagt 180
gaaaagactt cgggtctgta gctcaggtgg ttagagcgca cccctgataa gggtagagtc 240
ggtagttcga gtctaccag acccaccact ctgaatgtag tgcacactta agaatttata 300
tggatcagcg ttgaggctga gacatgttct ttataaactt gtgacgtagc gagcgtttga 360
gatatctatc taaacgtgtc gttgaagcta aggcggggac ttcgagtccc taaataattg 420
agtcgtatgt tcgcgttggg tggctttgtt acccacacaa cacgtacatg ttagctccga 480
ggcaacttgg ggttatatgg tcaagcgaat aagcgcacac ggtggatgcc taggcggtca 540
gtggcgatgt aggacgtggg agcctgcgaa aagtgtcggg gagctggcaa caagctttga 600
tccggcaata tccgaatggg gaaaccact gcttcggcag tatcttgca tgaattcata 660
gctgcttgaa gcgaaccccg t 681

```

<210> 530

<211> 229

<212> DNA

<213> *Cowduria ruminantium*

---

<400> 530

```

ggtgtgtaag tatggtaaca tatgtagcta accagtacta atagcccgat tgattttactt 60
atttgtaat tatatgtagt attaaaactg cagcttgtct ttttgcttat tttgttttat 120
gtttaattg ggttggtggg aatagcagaa gtgatacacc cagctacatt tcgaacctgg 180
tagttaagcc ttctagcgct tatggtactt tgtcttaagg cacgggaga 229

```



### Patentansprüche

1. Nukleinsäuremoleküle als Sonde und/oder Primer zum Nachweis von Bakterien, ausgewählt aus

---

a) Nukleinsäuremoleküle, umfassend, mindestens eine Sequenz mit einer der SEQ ID-Nrn. 1 bis 530 und/oder eine Sequenz aus Position 2667 bis 2720, 2727 bis 2776, 2777 bis 2801, 2801 bis 2832, 2857 bis 2896, 2907 bis 2931, 2983 bis 2999 und/oder 3000 bis 3032 gemäß SEQ ID Nr. 1; bzw. hierzu homologen, analogen oder zu mindestens 70 % identischen Nukleinsäuren,

b) Nukleinsäuremolekülen, die spezifisch mit einer Nukleinsäure nach a) hybridisieren;

c) Nukleinsäuremolekülen, die 70 %, vorzugsweise mindestens 90 % Identität zu einer Nukleinsäure nach a) oder b) aufweist,

d) Nukleinsäuremolekülen, die komplementär zu einer Nukleinsäure nach a) bis c) sind.

2. Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß es mindestens 10 Nukleotide, vorzugsweise mindestens 14 Nukleotide lang ist.
- 

3. Nukleinsäuremolekül nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Nukleinsäuremolekül dadurch modifiziert ist, daß bis zu 20 % der Nukleotide in 10 aufeinanderfolgenden Nukleotiden, insbesondere 1 oder 2 Nukleotide aus dem 10er-Block durch Nukleotide ersetzt sind, die in Bakterien nicht natürlich vorkommen.

4. Nukleinsäuremolekül nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Nukleinsäuremolekül so modifiziert bzw. markiert ist, daß es in an sich bekannten analytischen Nachweisverfahren ein Signal erzeugen kann, wobei die Modifikation ausgewählt wird aus (i) radioaktiven Gruppen (ii) farbigen Gruppen, (iii) fluoreszierenden Gruppen, (iv) Gruppen zur Immobilisierung von einer festen Phase und (v) Gruppen, die eine indirekte oder direkte Reaktion, insbesondere mit Hilfe von Antikörpern, Antigenen, Enzymen und/oder Substanzen mit Affinität zu Enzymen oder Enzymkomplexen, erlauben.
- 
5. Kombination aus mindestens 2 Nukleinsäuremolekülen ausgewählt aus
    - a) einer Kombination mindestens eines DNA-Moleküls, die gegenüber der Sequenz SEQ ID-Nr. 1, Position 2571 bis 2906, verkürzt ist und mindestens eines DNA-Moleküls, das gegenüber dem transkribierten Spacer zwischen den 23 S- und 5 S-Genen entsprechend der Position 2907 bis 2999 in SEQ ID-Nr. 1 verkürzt oder nicht verkürzt ist, oder hierzu homologen, analogen oder zu mindestens 75 % identischen DNA-Molekülen;
    - b) einer Kombination mindestens eines DNA-Moleküls, das gegenüber dem transkribierten Spacer zwischen den 23 S und 5 S-Genen, der Position 2907 bis 2999 aus SEQ ID-Nr. 1 verkürzt oder nicht verkürzt ist und mindestens eines DNA-Moleküls, das gegenüber dem 5 S rDNA Gen mit der Sequenz zwischen Position 3000 bis 3112 aus SEQ ID-Nr. 1, verkürzt ist; oder hierzu homologen, analogen oder zu mindestens 75 % identischen DNA-Molekülen;
    - c) einer Kombination mindestens eines DNA-Moleküls, das gegenüber dem 23 S-Gen mit der Sequenz von Position 2907 bis 2999 aus SEQ ID-Nr. 1 verkürzt oder nicht verkürzt ist und mindestens eines verkürzten DNA-Moleküls aus
-

dem 5 S rDNA-Gen von Position 3000 bis 3112 aus SEQ ID-Nr. 1, oder hierzu homologen, analogen oder zu mindestens 75 % identischen DNA-Molekülen;

d) einer Kombination mindestens eines DNA-Moleküls, das gegenüber dem 23 S-Gen mit Sequenz von Position 2571 bis 2906 der SEQ ID-Nr. 1 verkürzt ist und mindestens eines verkürzten DNA-Moleküls aus dem 5 S rDNA-Gen von Position 3000 bis 3112 aus SEQ ID-Nr. 1 oder hierzu homologen, analogen oder zu mindestens 75 % identischen DNA-Moleküls,

e) einer Kombination aus 2 Nukleinsäuremolekülen nach Anspruch 1;

f) einer Kombination, die mindestens ein DNA-Molekül enthält, das mit einem Bereich hybridisiert, der mindestens 100 Nukleotide stromaufwärts vom 3'-Ende der 23S rDNA, also innerhalb der 23S rDNA, hybridisiert;

wobei die Kombination gemäß a) bis f) auch ein zusammengesetztes Nukleinsäuremolekül sein kann, das mindestens 15 Basenpaare umfaßt, zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, vorzugsweise von Enterobakterien.

6. Kit, enthaltend ein Nukleinsäuremolekül oder eine Kombination an Nukleinsäuremolekülen nach einem der vorhergehenden Ansprüche.

7. Verfahren zum Nachweis von Bakterien, vorzugsweise Enterobakterien, in einer Analysenprobe, umfassend den Schritt Inkontaktbringen der Analysenprobe mit einer Nukleinsäure oder einer Kombination an Nukleinsäuren nach einem der Ansprüche 1 bis 5 und Nachweis geeigneter Hybridnukleinsäuren, umfassend die eingebrachte Nukleinsäure und bakterielle Nukleinsäure.

8. Verfahren zur Amplifikation bakterieller DNA einer Vielzahl verschiedener taxonomischer Einheiten, insbesondere Gattungen und Arten, unter Verwendung von Primern nach den Ansprüchen 1 - 5, wobei

in einem ersten Amplifikationsschritt die DNA für hohe taxonomische Einheiten wie Klassen, Abteilungen oder Familien, mit konservierten Primern amplifiziert werden und gegebenenfalls in mindestens einem weiteren Amplifikationsschritt (EN) mit verschachtelten, zunehmend variablen Primern, Teile des ersten Amplifikationsfragmentes, die spezifisch für Gattungen, Arten oder Spezies sind, vermehrt werden können und ggf. in einem weiteren Schritt die durch Amplifikation erhaltenen DNA-Fragmente, die für Gattungen, Arten oder Spezies spezifisch sind, mit Hilfe von Sonden nachgewiesen werden.

9. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Verfahren eine PCR-Amplifikation der nachzuweisenden Nukleinsäure umfaßt.
  10. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Verfahren eine Southernblothybridisierung umfaßt.
  11. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls nach einem der Ansprüche 1 bis 5 zum Nachweis von Bakterien bzw. bakterieller Nukleinsäuren
- 
12. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß der Nachweis eine Polymerasen-Kettenreaktion (PCR) umfaßt.
  13. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß der Nachweis eine Ligase-Kettenreaktion umfaßt.

14. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß der Nachweis eine isotherme Nukleinsäureamplifikation umfaßt.
  15. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls nach einem der Ansprüche 1 bis 5 zum Identifizieren und/oder Charakterisieren von Bakterien.
- 
16. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nr. 211 und/oder Nr. 212 oder hiervon abgeleiteter Derivate wie in Anspruch 1 a) bis d) definiert zum Nachweis beliebiger Eubakterien oder taxonomischer Einheiten der Eubakterien.
  17. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 1 bis 26, 34, 42, 54, 66, 78, 85, 135 bis 153, 166 bis 201, 96 bis 121, 125 und/oder 202 bis 212 nach einem der Ansprüche 1 bis 5 zum Nachweis der Familie der Enterobacteriaceae oder eines beliebigen Bakteriums der Familie der Enterobacteriaceae.
  18. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 2 bis 95, 135 bis 201, 211 bis 214, 252, 253, 289, 290, 326, 327, 361, 362, 401, 402 und/oder 486 nach Anspruch 1 zum Nachweis des  $\gamma$ -Zweigs der Proteobakterien oder eines beliebigen Bakteriums des  $\gamma$ -Zweigs der Proteobakterien.
- 
19. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 251, 288, 325, 326, 400, 431 und/oder 524 nach Anspruch 1 zum Nachweis der Gruppe der Chlamydiales oder Verrumicrobia oder eines beliebigen Bakteriums aus der Gruppe der Chlamydiales oder Verrumicrobia.

20. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 248, 285, 322, 357, 397, 429, 521, 249, 286, 323, 358, 398, 430 und/oder 522 nach Anspruch 1 zum Nachweis der Gruppe der Cyanobacteria oder eines beliebigen Bakteriums aus der Gruppe der Cyanobacteria.

21. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nr. 395, 428, 519, 246, 283, 320, 355, 520, 247, 284, 321, 356 und/oder 396 nach Anspruch 1 zum Nachweis der Gruppe der Cytophagales oder der Gruppe der grünen Schwefelbakterien oder eines beliebigen Bakteriums der Gruppe der Cytophagales oder der Gruppe der grünen Schwefelbakterien.

22. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 230 bis 245, 269 bis 282, 306 - 319, 341 - 354, 376 - 394, 411 bis 427 und/oder 505 bis 518 nach Anspruch 1 zum Nachweis der Gruppe der Firmicutes oder grampositiven Bakterien oder eines beliebigen Bakteriums aus der Gruppe der Firmicutes oder grampositiven Bakterien.

23. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 250, 287, 324, 359, 399 und/oder 523 nach Anspruch 1 zum Nachweis der Gruppe der Spirochaetales oder eines beliebigen Bakteriums aus der Gruppe der Spirochaetales.

24. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 42, 96, 135 und/oder 166 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem  $\gamma$ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß

es die Gattung Budvicia,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Budvicia,

oder beliebige Stämme der Gattung Budvicia,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien  
oder Mikroorganismen nachweist..

25. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ  
ID Nrn. 42, 114-119, 151, 164 und/oder 183 nach Anspruch 1 zum Nachweis  
von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem  $\gamma$ -Zweig  
der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß

es die Gattung Serratia,  
oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Serratia,  
oder beliebige Stämme der Gattung Serratia,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder  
Mikroorganismen nachweist

26. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ  
ID Nrn. 96, 125, 186 und/oder 201 nach Anspruch 1 zum Nachweis von  
Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem  $\gamma$ -Zweig der  
Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß

es die Gattung Cedecea,  
oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Cedecea,  
~~oder beliebige Stämme der Gattung Cedecea,~~

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder  
Mikroorganismen nachweist

27. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ  
ID Nrn. 97, 136, 167 und/oder 187 nach Anspruch 1 zum Nachweis von

Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem  $\gamma$ -Zweig der Proteobakterien, das **dadurch gekennzeichnet** ist, daß

es die Gattung *Buttiauxella*,  
oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Buttiauxella*,  
oder beliebige Stämme der Gattung *Buttiauxella*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

---

28. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 98, 137, 165, 168 und/oder 188 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem  $\gamma$ -Zweig der Proteobakterien, das **dadurch gekennzeichnet** ist, daß

es die Gattung *Enterobacter*,  
oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Enterobacter*,  
oder beliebige Stämme der Gattung *Enterobacter*,  
unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist

29. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 99, 100, 138, 139, 169, 170, 189 und/oder 190 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem  $\gamma$ -Zweig der Proteobakterien, das **dadurch gekennzeichnet** ist, daß

---

es die Gattung *Erwinia*,  
oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Erwinia*,  
oder beliebige Stämme der Gattung *Erwinia*,



unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

30. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 1, 1013, 140-142, 165, 171-173, 187, 191 und/oder 192 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem  $\gamma$ -Zweig der Proteobakterien, das **dadurch gekennzeichnet** ist, daß
- 

es die Gattung *Escherichia*,  
oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Escherichia*,  
oder beliebige Stämme der Gattung *Escherichia*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

31. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 104, 143, 174 und/oder 193 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem  $\gamma$ -Zweig der Proteobakterien, das **dadurch gekennzeichnet** ist, daß
- 

es die Gattung *Hafnia*,  
oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Hafnia*,  
oder beliebige Stämme der Gattung *Hafnia*,

---

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

32. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 105, 144, 165, 175 und/oder 187 nach Anspruch 1 zum Nachweis

von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem  $\gamma$ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß

es die Gattung Klebsiella,  
oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Klebsiella,  
oder beliebige Stämme der Gattung Klebsiella,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

---

33. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 107, 146, 176 und/oder 194 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem  $\gamma$ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß

es die Gattung Morganella,  
oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Morganella,  
oder beliebige Stämme der Gattung Morganella,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

34. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 108, 109, 147, 165, 177, 178, 187 und/oder 188 nach Anspruch 1 ~~zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien~~  
aus dem  $\gamma$ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß

es die Gattung Pantoea,  
oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Pantoea,  
oder beliebige Stämme der Gattung Pantoea,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

35. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nm. 110, 111, 148, 149, 179, 180, 195 und/oder 196 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem  $\gamma$ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß

es die Gattung *Proteus*,  
oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Proteus*,  
oder beliebige Stämme der Gattung *Proteus*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

36. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nm. 121, 122, 152, 153, 164, 184, 185, 199 und/oder 200 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem  $\gamma$ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß

es die Gattung *Yersinia*,  
oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Yersinia*,  
oder beliebige Stämme der Gattung *Yersinia*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

37. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nm. 112, 149, 181 und/oder 197 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem  $\gamma$ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß

es die Gattung *Providencia*,  
oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Providencia*,  
oder beliebige Stämme der Gattung *Providencia*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

- 
38. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 113, 150, 164, 182 und/oder 198 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem  $\gamma$ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß

es die Gattung *Rahnella*,  
oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Rahnella*,  
oder beliebige Stämme der Gattung *Rahnella*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

39. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 202 und/oder 203 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem  $\gamma$ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß

---

es die Gattung *Citrobacter*,  
oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Citrobacter*,  
oder beliebige Stämme der Gattung *Citrobacter*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

40. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 204-210, 401, 432 und/oder 486 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem  $\gamma$ -Zweig der Proteobakterien, das **dadurch gekennzeichnet** ist, daß

es die Gattung *Salmonella*,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Salmonella*,

---

oder beliebige Stämme der Gattung *Salmonella*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

41. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 27, 35, 43, 55, 67, 79, 86, 122 und/oder 154 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem  $\gamma$ -Zweig der Proteobakterien, das **dadurch gekennzeichnet** ist, daß sie

die Gruppe der fluoreszierenden Pseudomonaden der  $\gamma$ -Gruppe,

oder beliebige Gruppen von Gattungen, Arten oder Stämmen aus Gruppe der fluoreszierenden Pseudomonaden der  $\gamma$ -Gruppe,

oder beliebige Gattungen, Arten oder Stämme aus der Gruppe der fluoreszierenden Pseudomonaden der  $\gamma$ -Gruppe,

oder die Familie der Moraxellaceae der fluoreszierenden Pseudomonaden der  $\gamma$ -Gruppe,

---

oder beliebige Gattungen, Arten oder Stämme aus der Familie der Moraxellaceae der  $\gamma$ -Gruppe,

oder die Gattung *Acinetobacter*,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Acinetobacter*,

oder beliebige Stämme der Gattung *Acinetobacter*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

42. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nm. 28, 36, 44, 56, 68, 80, 87, 123, 124 und/oder 155 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem  $\gamma$ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die "Aeromonas-Gruppe" der  $\gamma$ -Gruppe der Proteobakterien,

oder beliebige Gruppen von Gattungen, Arten oder Stämmen aus der "Aeromonas-Gruppe" der  $\gamma$ -Gruppe,

oder beliebige Gattungen, Arten oder Stämme aus der "Aeromonas-Gruppe" der  $\gamma$ -Gruppe,

oder die Gattung Aeromonas,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Aeromonas,

oder beliebige Stämme der Gattung Aeromonas,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

43. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nm. 29, 37, 45, 57, 69, 81, 88, 126 und/oder 156 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem  $\gamma$ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Familie der Pasteurellaceae der  $\gamma$ -Gruppe,

oder beliebige Gruppen von Gattungen, Arten oder Stämmen aus der Familie der Pasteurellaceae der  $\gamma$ -Gruppe,

oder die Gattung *Haemophilus*,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Haemophilus*,

oder beliebige Stämme der Gattung *Haemophilus*,

---

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

4. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nm. 30, 38, 46, 58, 70, 82, 89, 127 und/oder 157 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem  $\gamma$ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Gruppe der fluoreszierenden Pseudomonaden der  $\gamma$ -Gruppe,

oder beliebige Gruppen von Gattungen, Arten oder Stämmen aus Gruppe der fluoreszierenden Pseudomonaden der  $\gamma$ -Gruppe,

oder die Familie der Moraxellaceae der fluoreszierenden Pseudomonaden der  $\gamma$ -Gruppe,

oder beliebige Gattungen, Arten oder Stämme aus der Familie der Moraxellaceae der  $\gamma$ -Gruppe,

oder die Gattung *Moraxella*,

---

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Moraxella*,

oder beliebige Stämme der Gattung *Moraxella*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

45. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nm. 31, 39, 47, 59, 71, 83, 128 und/oder 158 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem  $\gamma$ -Zweig der Proteobakterien, das **dadurch gekennzeichnet** ist, daß sie

die Familie der Pasteurellaceae der  $\gamma$ -Gruppe,

oder beliebige Gattungen, Arten oder Stämme aus der Familie der Pasteurellaceae der  $\gamma$ -Gruppe,

---

oder die Gattung Pasteurella,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Pasteurella,

oder beliebige Stämme der Gattung Pasteurella,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

46. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nm. 32, 40, 48, 60, 72, 84, 90, 129 und/oder 159 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem  $\gamma$ -Zweig der Proteobakterien, das **dadurch gekennzeichnet** ist, daß sie

die Xanthomonas-Gruppe der  $\gamma$ -Gruppe,

oder beliebige Gattungen, Arten oder Stämme aus der Xanthomonas-Gruppe der  $\gamma$ -Gruppe,

---

oder die Gattung Stenotrophomonas,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Stenotrophomonas,

oder beliebige Stämme der Gattung Stenotrophomonas,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.



47. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 33, 41, 50-53, 61-65, 73-77, 91-95, 130-134, 160-162 und/oder 163 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien aus dem  $\gamma$ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

---

die Familie der Vibrionaceae der  $\gamma$ -Gruppe,

oder beliebige Gattungen, Arten oder Stämme aus der Familie der Vibrionaceae der  $\gamma$ -Gruppe,

oder die Gattung Vibrio,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Vibrio,

oder beliebige Stämme der Gattung Vibrio,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

48. Verwendung des Nukleinsäuremoleküles SEQ ID 474 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Familie und/oder Mitglieder der Familie der Azotobacteriaceae,

oder die Gattung Azotobacter,

---

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Azotobacter,

oder beliebige Stämme der Gattung Azotobacter,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

49. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 402, 433, und/oder 487 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Gattung Buchnera,  
oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Buchnera,  
oder beliebige Stämme der Gattung Buchnera,

---

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

50. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 213, 252, 289, 326, 361, 403, 434 und/oder 488 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Gruppe der fluoreszierenden Pseudomonaden der  $\gamma$ -Gruppe der Proteobakterien,

oder die fluoreszierende Gattung Pseudomonas

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Pseudomonas,

oder beliebige Stämme der Gattung Pseudomonas,

---

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

51. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 529 nach Anspruch 1 -10 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Xanthomonas-Gruppe der  $\gamma$ -Gruppe der Proteobakterien,  
 die Gattung Xanthomonas  
 oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Xanthomonas,  
 oder beliebige Stämme der Gattung Xanthomonas,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder  
 Mikroorganismen nachweist.

52. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ  
 ID Nrn. 213, 252, 289, 326, 361, 403, 434 und/oder 488 nach Anspruch 1  
 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien  
 aus dem  $\gamma$ -Zweig der Proteobakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß  
 sie

die Gruppe der fluoreszierenden Pseudomonaden der  $\gamma$ -Gruppe,  
 oder beliebige Gruppen von Gattungen, Arten oder Stämmen aus Gruppe der  
 fluoreszierenden Pseudomonaden der  $\gamma$ -Gruppe,  
 oder beliebige Gattungen, Arten oder Stämme aus der Gruppe der fluoreszie-  
 renden Pseudomonaden der  $\gamma$ -Gruppe,  
 oder die Gattung Pseudomonas,  
 oder die Art Pseudomonas stutzeri,  
 oder beliebige Stämme der Gattung Pseudomonas aus der Gruppe der fluores-  
 zierenden Pseudomonaden der  $\gamma$ -Gruppe,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder  
 Mikroorganismen nachweist.

53. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ  
 ID Nrn. 216, 255, 292, 329, 364, 437 und/oder 491 nach Anspruch 1 zum

Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Rickettsiales,  
 oder die Familie der Rickettsiaceae  
 oder die Gattung Adalia,  
 oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Adalia,  
 oder beliebige Stämme der Gattung Adalia,

---

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

54. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 215, 254, 291, 328, 363, 436 und/oder 490 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Familie der Rhizobiaceae,  
 oder die Gattung Agrobacterium,  
 oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung Agrobacterium,  
 oder beliebige Stämme der Gattung Agrobacterium,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

---

55. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 439 und/oder 492 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Rhizobiaceae-Gruppe oder Rhizobacteria,

die Gattung *Brucella*,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Agrobacterium*,

oder die Art *Brucella abortus*

oder beliebige Stämme der Gattung *Brucella*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

- 
56. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 218, 257, 294, 331, 365, 439 und/oder 492 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Rhizobiaceae-Gruppe oder Rhizobacteria,

oder die Gattung *Brucella*,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Agrobacterium*,

oder die Art *Brucella ovis*

oder beliebige Stämme der Gattung *Brucella*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

57. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 439 und/oder 492 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien ~~oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet~~ ist, daß sie
- 

die Rhizobiaceae-Gruppe oder Rhizobacteria,

oder die Gattung *Brucella*,

oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Agrobacterium*,

oder die Art *Brucella orientalis*

oder beliebige Stämme der Gattung *Brucella*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

58. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 219, 258, 295, 331, 366, 440 und/oder 493 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das
- 
- dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die *Bradyrhizobium*-Gruppe,  
 oder die Gattung *Bradyrhizobium*,  
 oder beliebige Gruppen von Arten der Gattung *Bradyrhizobium*,  
 oder beliebige Stämme der Gattung *Bradyrhizobium*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

59. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 530 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die *Rickettsiales*,  
 oder die Familie *Rickettsiaceae*,  
 oder die *Ehrlichieae*,

---

oder die Gattung *Cowduria*,  
 oder beliebige Stämme der Gattung *Cowduria*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

60. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 220, 259, 296, 332, 367, 441 und/oder 494 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Zymomonas-Gruppe der  $\alpha$ -Gruppe der Proteobakterien,

oder die Gattung Sphingomonas,

---

oder die Spezies *Pseudomonas paucimobilis*,

oder beliebige Stämme der Gattung Sphingomonas oder der Spezies *Pseudomonas paucimobilis*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

61. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 221, 260, 297, 333, 368, 442 und/oder 495 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Rhodobacter-Gruppe der  $\alpha$ -Gruppe der Proteobakterien,

oder die Gattung Rhodobacter,

oder beliebige Stämme der Gattung Rhodobacter,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

---

62. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 222, 261, 298, 333, 369, 443, 496, 497 und/oder 498 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Rickettsiales,

oder die Rickettsiaceae,

oder die Rickettsieae,

oder die Gattung Rickettsia,

oder die Spezies Rickettsia prowazekii oder Rickettsia bellii oder Rickettsia rickettsii,

---

oder beliebige Stämme der Gattung Rickettsia,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

63. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nrn. 223, 262, 299, 334, 370, 405, 499 und/oder 525 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Zymomonas-Gruppe der  $\alpha$ -Gruppe der Proteobakterien,

oder die Gattung Sphingomonas,

oder beliebige Stämme der Gattung Sphingomonas,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

---

64. Verwendung des Nukleinsäuremoleküls SEQ ID 485 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Rickettsiales,

oder die Rickettsiaceae,



oder die Wolbachieae,  
oder die Gattung Wolbachia,  
oder beliebige Stämme der Gattung Wolbachia,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

65. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ

ID Nrn. 224, 263, 300, 335, 371, 500 und/oder 526 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Zymomonas-Gruppe der  $\alpha$ -Gruppe der Proteobakterien,  
oder die Gattung Zymomonas,  
oder beliebige Stämme der Gattung Zymomonas,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

66. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ

ID Nrn. 225, 264, 301, 336, 372, 406, 501 und/oder 527 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Alcaligenaceae,

oder die Gattung Alcaligenes,  
oder beliebige Stämme der Gattung Alcaligenes,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

67. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nm. 226, 265, 301, 337, 407, 444 und/oder 502 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Pseudomallei-Gruppe der Pseudomonaden der  $\beta$ -Gruppe der Proteobakterien,

~~oder die Gattung Pseudomonas der Pseudomallei-Gruppe,~~

oder beliebige Stämme der Gattung Pseudomonas der Pseudomallei-Gruppe,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

68. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nm. 227, 266, 303, 338, 373, 408, 445 und/oder 503 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Burkholderia-Gruppe,

oder die Gattung Ralstonia,

oder oder beliebige Stämme der Gattung Ralstonia,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

- 
69. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ ID Nm. 228, 267, 304, 339, 374, 409 und/oder 446 nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien, das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die Campylobacter-Gruppe,

oder die Gattung *Campylobacter*,  
oder die Spezies *Campylobacter jejuni*,  
oder beliebige Stämme der Gattung *Campylobacter*,

unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

70. Verwendung eines Nukleinsäuremoleküls, umfassend eine Sequenz der SEQ

---

ID Nm. 229, 268, 305, 340, 375, 410, 447 und/oder 504 nach Anspruch 1  
zum Nachweis von Bakterien oder phylogenetischen Gruppen von Bakterien,  
das dadurch gekennzeichnet ist, daß sie

die *Helicobacter*-Gruppe,  
oder die Gattung *Helicobacter*,  
oder die Spezies *Helicobacter pylori*,  
oder beliebige Stämme der Gattung *Helicobacter*,



unter Ausgrenzung von anderen nahe und/oder fern verwandten Bakterien oder Mikroorganismen nachweist.

---


### **Zusammenfassung**

Die vorliegende Erfindung betrifft Nukleinsäuremoleküle, die die Identifikation von Bakterien oder Bakteriengruppen ermöglichen. Bei dem Nachweis wird die 23S/5S rRNA enthaltende Region des bakteriellen Genoms als Zielsequenz für den Bakteriennachweis eingesetzt.

---



---



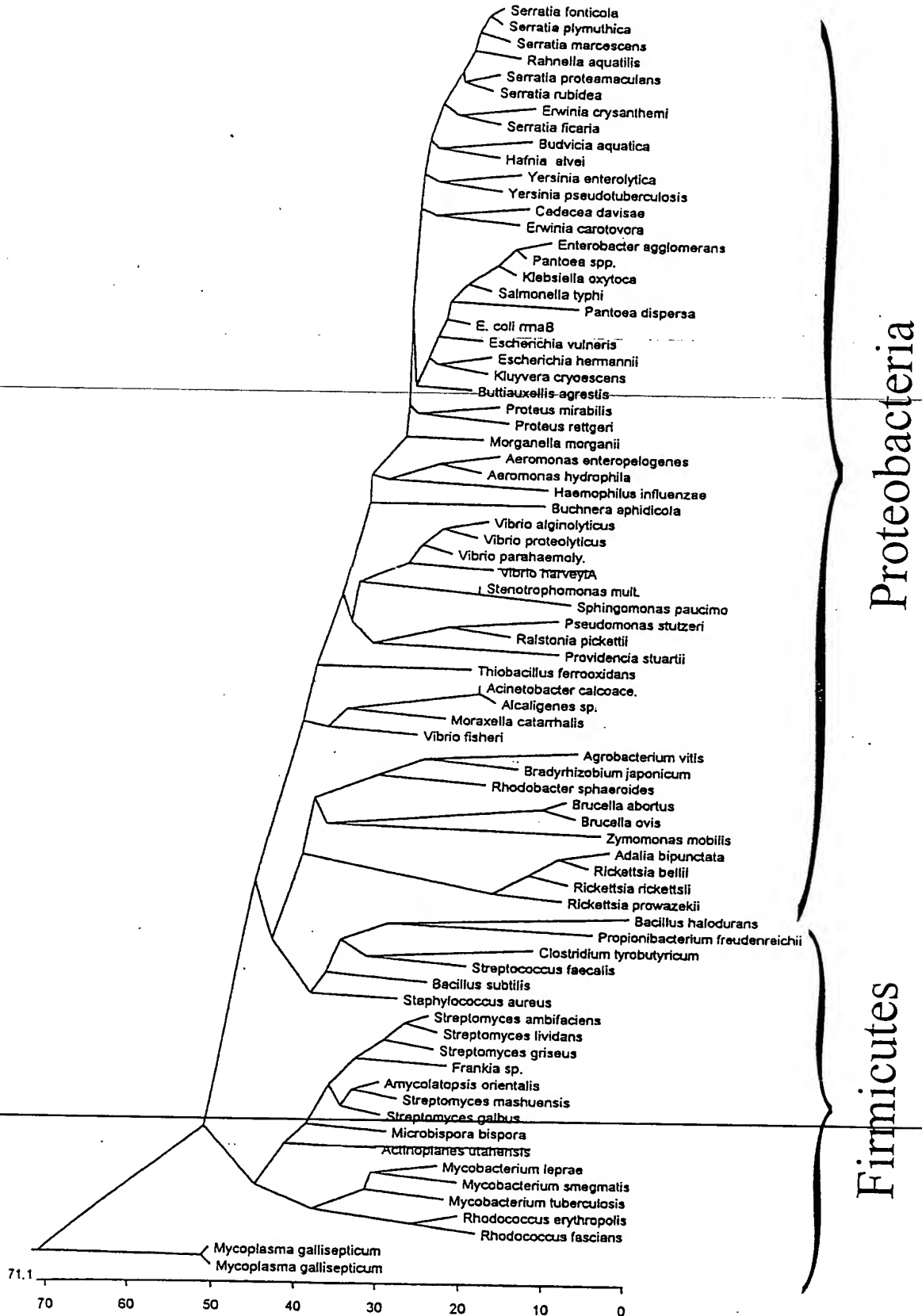


Abb. 1

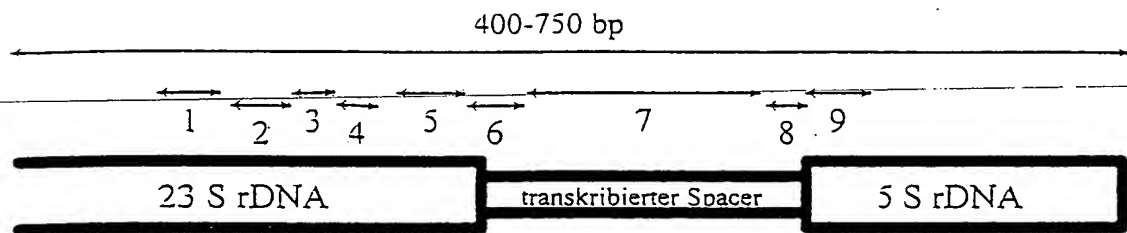


Abb. 2

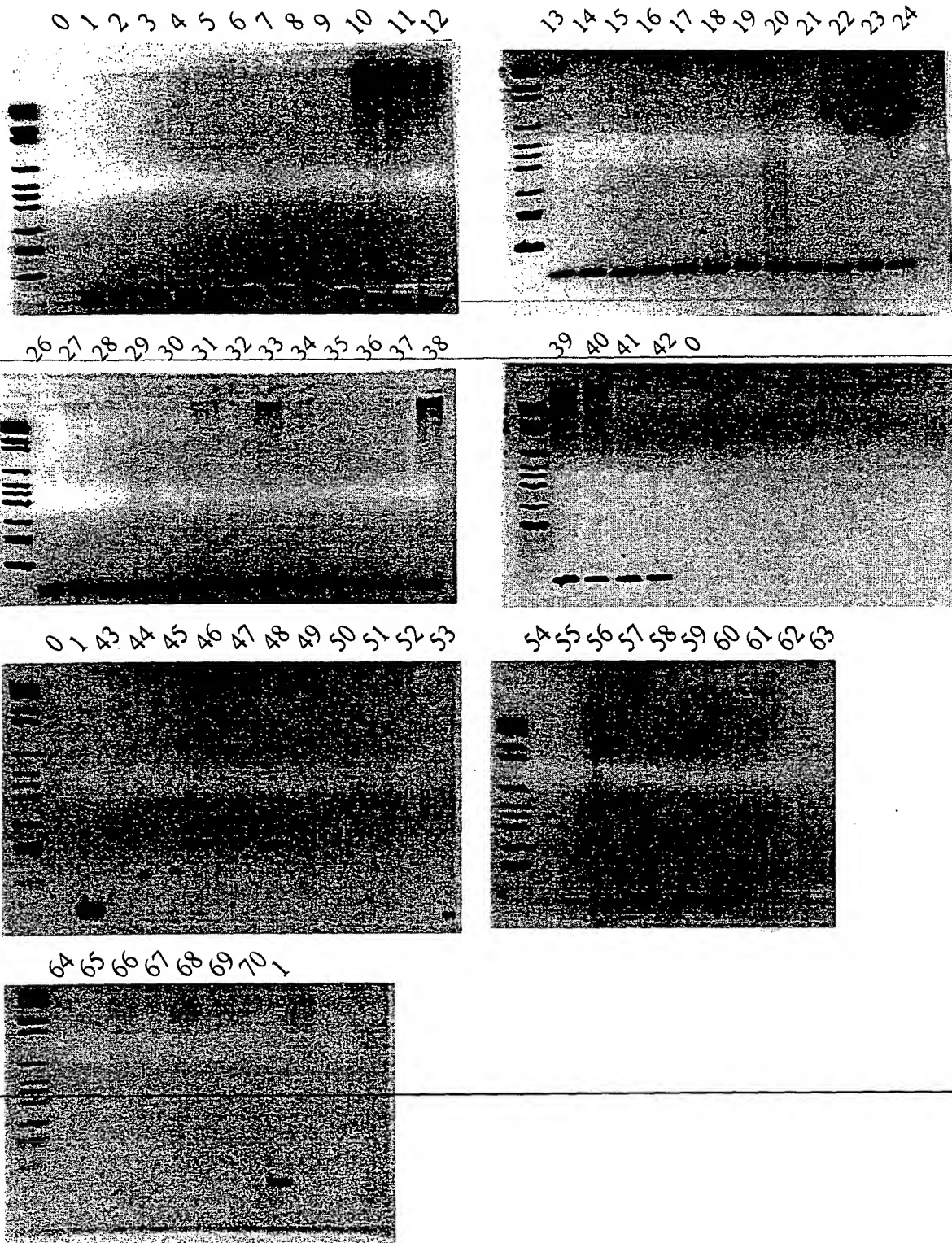
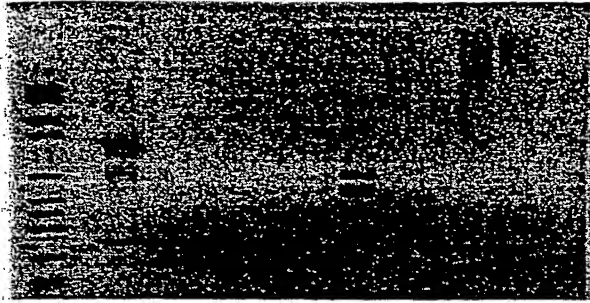
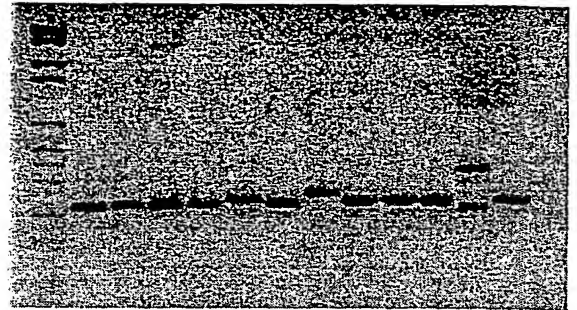


Abb. 3

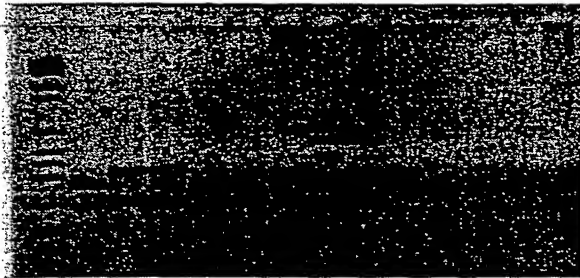
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12



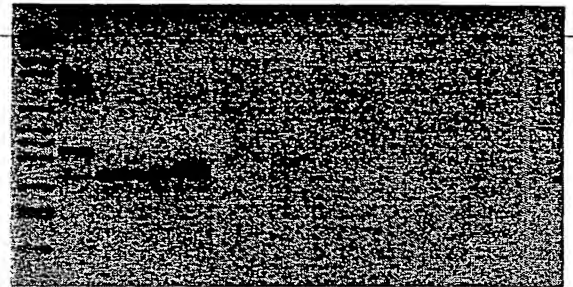
13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24



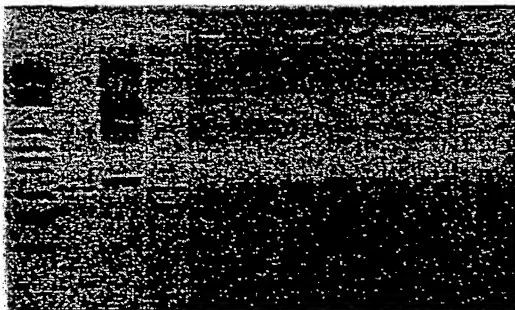
26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38



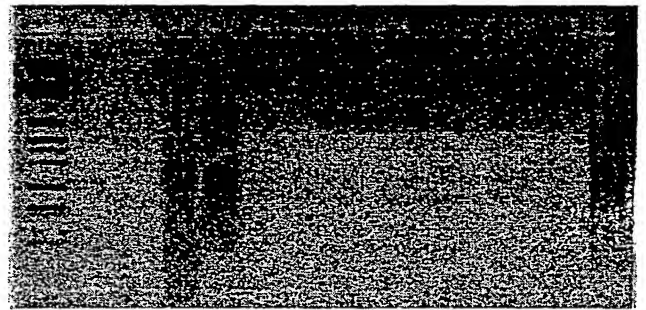
39 40 41 42 0



0 1 43 45 46 47 49 50 51 53



54 55 ... 56 ... 57 58 59 60 61 ... 62 63



64 65 66 67 68 69 ... 1

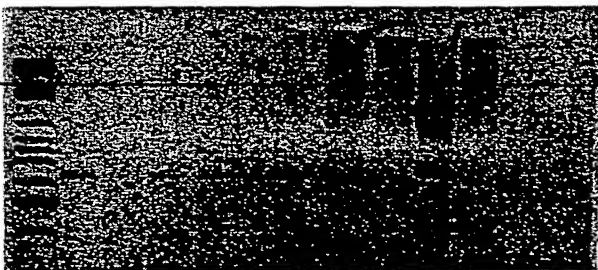
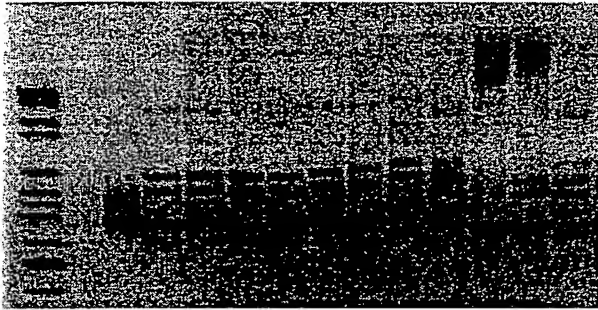


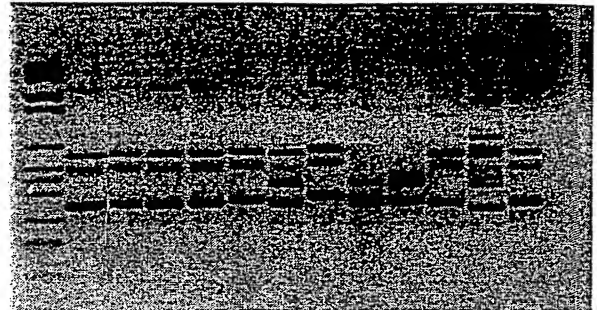
Abb. 4



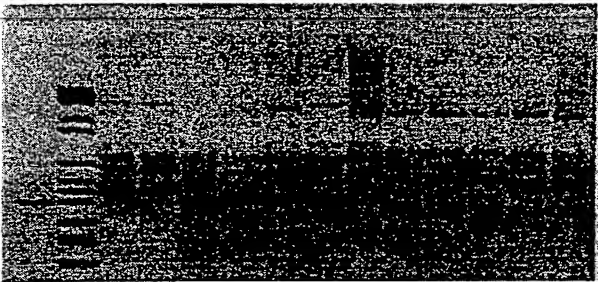
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12



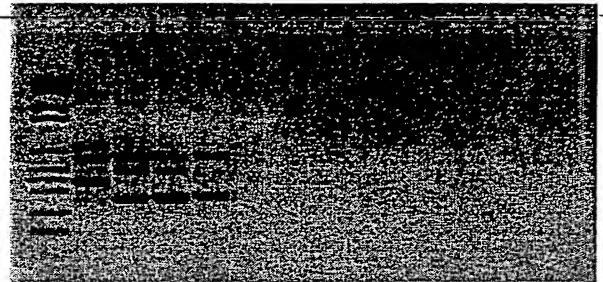
13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24



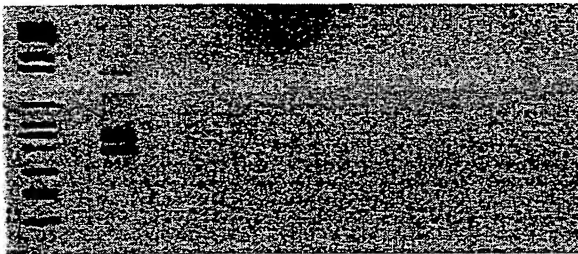
26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38



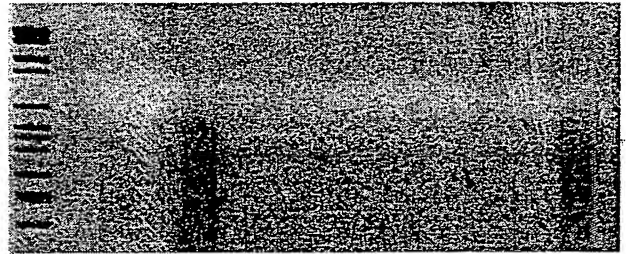
39 40 41 42 0



0 1 43 44 45 46 47 48 49 50 51 53 52



54 55 ... 56 ... 57 58 59 60 61 ... 62 63



64 65 66 67 68 69 ... .. 1

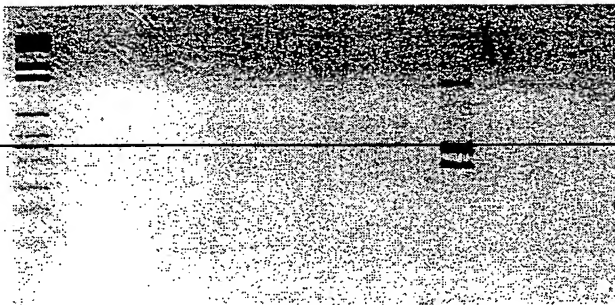


Abb. 5

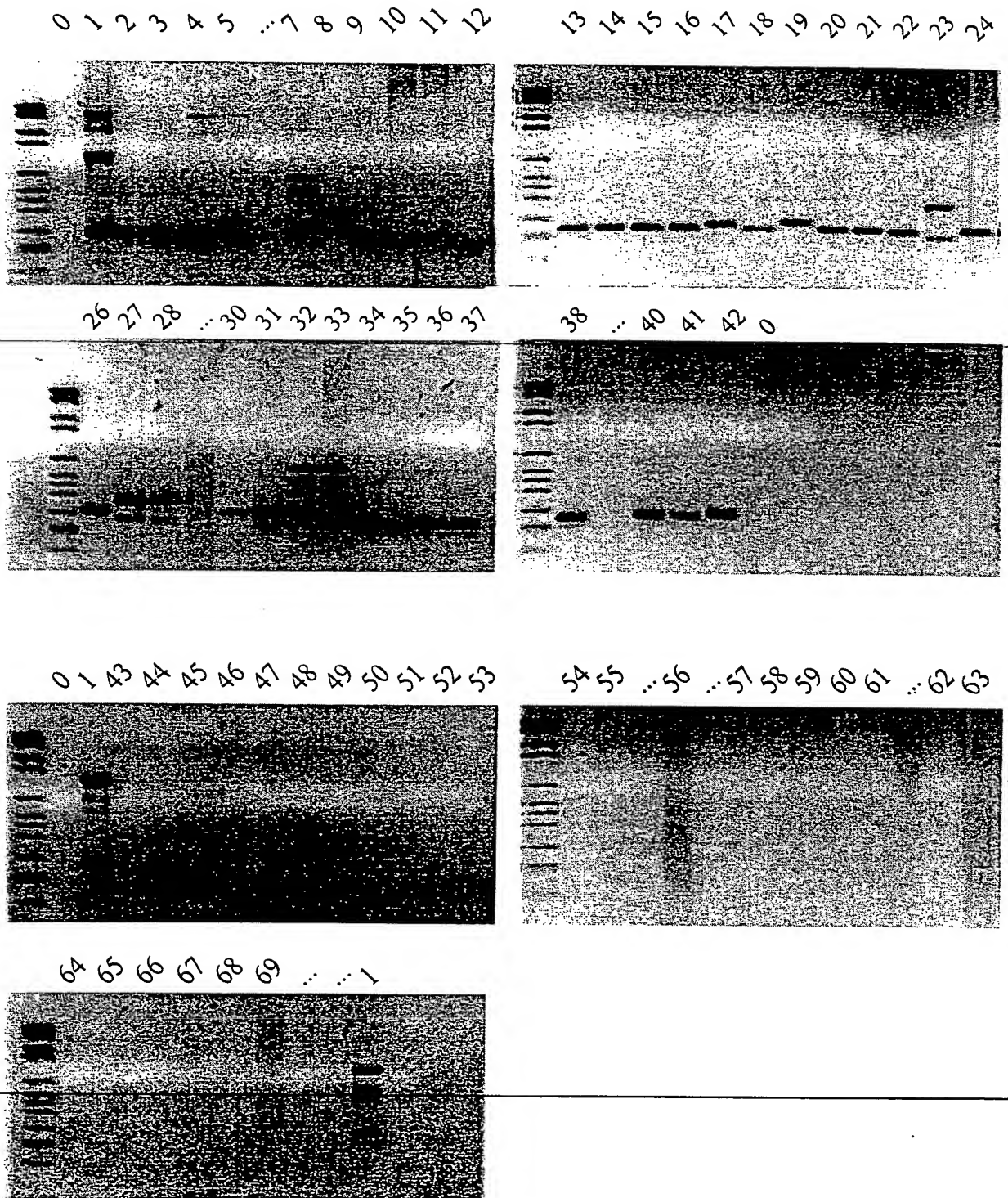
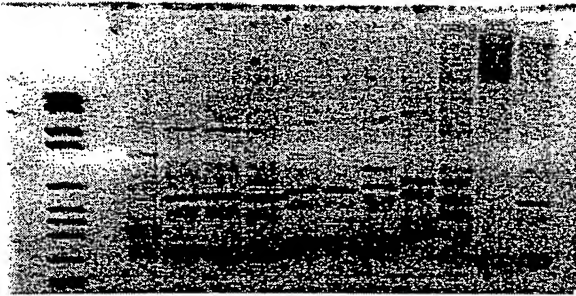
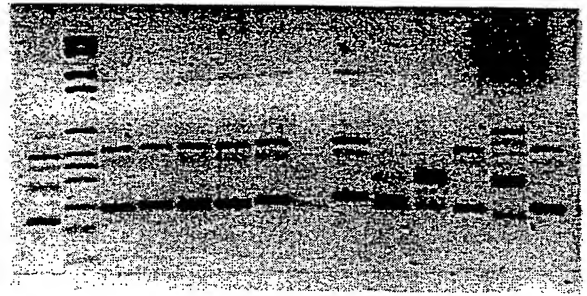


Abb. 6

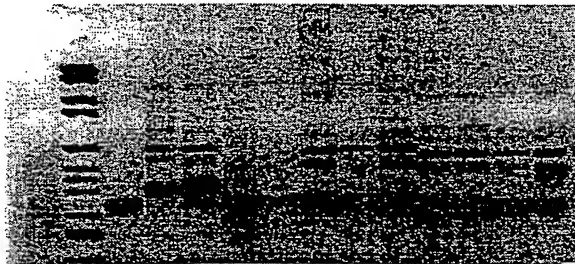
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11



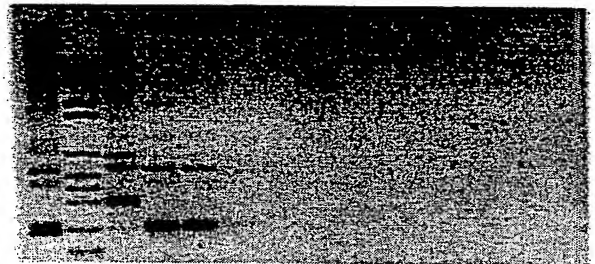
12 13 14 15 16 17 ... 19 20 21 22 23 24



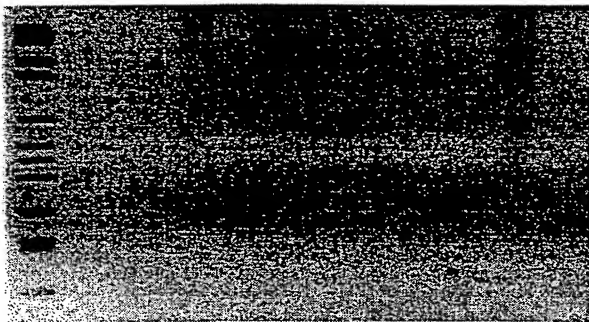
27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38



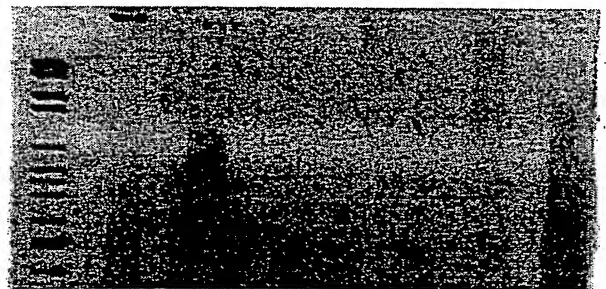
39 40 41 42 0



0 ... 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53



54 55 ... 56 ... 57 58 59 60 61 ... 62 63



64 65 66 67 68 69

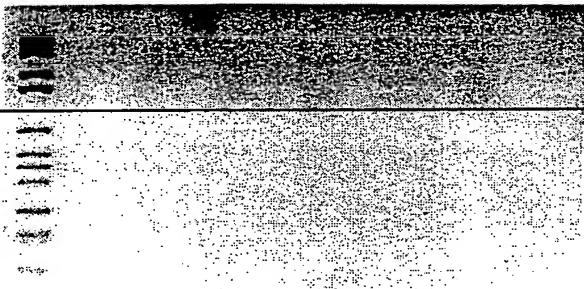


Abb. 7

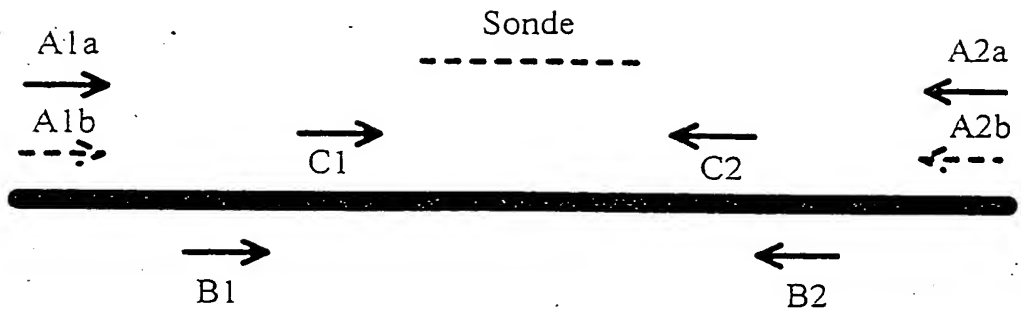


Abb. 8